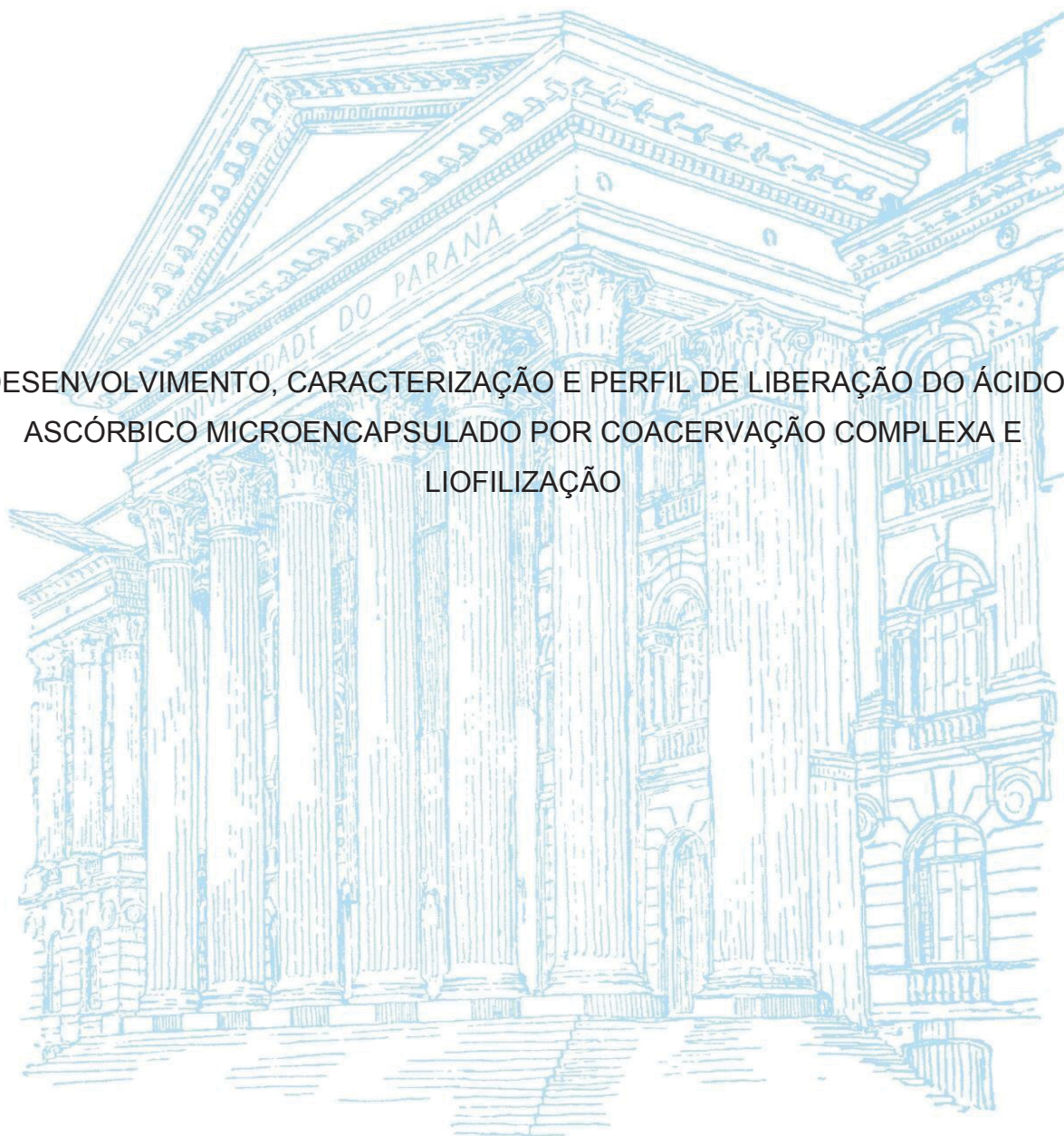


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MICHELE CRISTINA RODRIGUES DA CRUZ

DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E PERFIL DE LIBERAÇÃO DO ÁCIDO
ASCÓRBICO MICROENCAPSULADO POR COACERVAÇÃO COMPLEXA E
LIOFILIZAÇÃO



CURITIBA

2018

MICHELE CRISTINA RODRIGUES DA CRUZ

DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E PERFIL DE LIBERAÇÃO DO ÁCIDO
ASCÓRBICO MICROENCAPSULADO POR COACERVAÇÃO COMPLEXA E
LIOFILIZAÇÃO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos do Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Lúcia Masson
Co-orientadora: Dra. Camila Augusto Perussello

CURITIBA

2018

Catálogo na Fonte: Sistema de Bibliotecas, UFPR
Biblioteca de Ciência e Tecnologia

C957d

Cruz, Michele Cristina Rodrigues da
Desenvolvimento, caracterização e perfil de liberação do ácido ascórbico
microencapsulado por coacervação complexa e liofilização / Michele Cristina
Rodrigues da Cruz. – Curitiba, 2018.

Tese - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa
de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, 2018.

Orientador: Maria Lúcia Masson – Coorientador: Camila Augusto
Perussello.

1. Vitamina C. 2. Microencapsulação. 3. Emulsões. I. Universidade
Federal do Paraná. II. Masson, Maria Lúcia. III. Perussello, Camila Augusto.
IV. Título.

CDD: 663.63

Bibliotecário: Elias Barbosa da Silva CRB-9/1894



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ENGENHARIA DE
ALIMENTOS

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ENGENHARIA DE ALIMENTOS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de MICHELE CRISTINA RODRIGUES DA CRUZ intitulada: Desenvolvimento, caracterização e perfil de liberação do ácido ascórbico microencapsulado por coacervação complexa e liofilização, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 19 de Outubro de 2018.


MARIA LUCIA MASSON
Presidente da Banca Examinadora


ALINE ALBERTI
Avaliador Externo


FRANCINY CAMPOS SCHMIDT
Avaliador Interno


SORAIA VILELA BORGES
Avaliador Externo


NEY PEREIRA MATTOSO FILHO
Avaliador Externo

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus, por estar presente em todos os momentos da minha vida, iluminando meu caminho e acima de tudo colocando pessoas na minha vida, as quais eu posso chamar de anjos.

Ao meu marido Dean Luiz Afaro pelo seu amor, companheirismo e paciência. Você foi essencial para que eu conseguisse concluir essa etapa tão almejada em minha vida profissional. Amo você.

À minha mãe Zaira pelas orações, apoio e compreensão.

A minha querida orientadora Profa. Dra. Maria Lúcia Masson, pela orientação, apoio e principalmente pela confiança.

A minha querida Co-orientadora Camila Augusto Perussello, pela orientação, por todo o incentivo, paciência, confiança e por sempre me atender com prontidão.

Às minhas colegas de apartamento Vanessa Leifeld e Tatiane Gomes por todo o companheirismo e amizade, por compartilharem os momentos de alegria e tristeza durante estes 4 anos.

Aos meus colegas de laboratório João, Thais, Caroline e Poliana pela parceria, convivência e momentos de descontração.

Aos amigos e familiares que, mesmo de longe, estiveram torcendo por mim.

À Universidade Federal do Paraná, em especial aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos (PPGEAL).

A Capes pelo auxílio financeiro durante todo o período de doutorado no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos.

A todos que colaboraram de forma direta ou indireta na realização deste trabalho.

Muito Obrigada!

RESUMO

O ácido ascórbico (AA) é um composto altamente instável e reativo que sofre rápida degradação quando exposto variações de temperatura e pH, presença de luz, altas concentrações de oxigênio e altos valores de atividade de água (A_w), limitando sua aplicação em certos alimentos. A microencapsulação é uma alternativa interessante que tem sido utilizada para aumentar a estabilidade do AA sem reduzir as suas propriedades funcionais e tornando possível a sua incorporação em matrizes alimentícias. O objetivo deste estudo foi desenvolver e caracterizar microcápsulas de AA, assim como avaliar o perfil de liberação do AA microencapsulado por coacervação complexa e liofilização utilizando como materiais de parede as misturas gelatina:goma arábica, gelatina:pectina e gelatina:inulina. O **Capítulo 1** deste estudo consiste em uma revisão bibliográfica acerca do material ativo (AA), dos polímeros utilizados como materiais de parede (gelatina, goma arábica, pectina e inulina) e dos processos de microencapsulação. No **Capítulo 2** foram desenvolvidas microcápsulas de AA utilizando a gelatina e a goma arábica como materiais de parede por coacervação complexa. As microcápsulas foram avaliadas quanto à morfologia (microscopia ótica e microscopia eletrônica de varredura), atividade de água (A_w), higroscopicidade, solubilidade em água, eficiência de encapsulação (EE), comportamento térmico, estabilidade durante 60 dias de armazenamento e perfil de liberação do material ativo em diferentes valores de pH (1,1, 2,2, 5,4, 7,4, 9,6 e 12). As microcápsulas apresentaram uma EE que variou de 27 a 94%, baixa solubilidade em água e baixa higroscopicidade. A estabilidade térmica aumentou drasticamente de 311 °C para 456 °C após o processo de microencapsulação. A liberação do AA foi mais lenta em meio com pH 7,4 com liberação de 96% em 300 min de análise. No **Capítulo 3**, a gelatina e a pectina foram utilizadas como materiais de parede na microencapsulação do AA por coacervação complexa. Foram avaliados as características físico-químicas e o perfil de liberação em fluidos gástrico e intestinal simulados. As microcápsulas apresentaram uma EE que variou de 24 a 94%, baixos valores de higroscopicidade e baixa solubilidade em água. O perfil de liberação do AA microencapsulado foi mais pronunciado em fluido gástrico (pH 1,8) e mais lento em fluido intestinal (pH 6,8). A amostra com concentração de 2,0 g/100 mL de material de parede e 50% de núcleo apresentou o melhor perfil de liberação *in vitro*, com liberação de apenas 68% do AA em 120 min na presença de fluido gástrico. No **Capítulo 4** foram utilizadas a gelatina e a inulina como materiais de parede na microencapsulação do AA por emulsão dupla (A/O/A) seguida de liofilização. Foram avaliadas a estabilidade térmica e as características físico-químicas do AA microencapsulado. As microcápsulas apresentaram baixa A_w e baixa higroscopicidade. A solubilidade em água variou de 12 a 50% e a EE de 20 a 91%. A amostra contendo 7,5 g/100 mL de material de parede e 50% de núcleo foi a mais estável, com 60% de AA disponível após 60 dias de armazenamento. A estabilidade térmica do AA encapsulado aumentou consideravelmente, de 224 °C para 412 °C. Os resultados obtidos neste estudo indicam que as microcápsulas de AA apresentam grande potencial para a aplicação em matrizes alimentícias.

Palavras-chave: microencapsulação, emulsão dupla, vitamina C, liberação, estabilidade térmica, eficiência de encapsulação.

ABSTRACT

Ascorbic acid (AA) is a highly unstable and reactive compound that undergoes rapid degradation when exposed to temperature and pH variations, presence of light, high concentrations of oxygen, and high values of water activity (A_w), limiting its application in certain foods. Microencapsulation is an interesting alternative that has been used to increase the stability of AA without reducing its functional properties and rendering possible its incorporation in food matrices. The objective of this study was to develop and characterize AA microcapsules, as well as assess the release profile of AA microcapsules produced by complex coacervation and lyophilization using as wall materials the blends gelatin: gum arabic, gelatin: pectin, and gelatin: inulin. **Chapter 1** of this study consists of a literature review on the active material (AA), the polymers used as wall materials (gelatin, gum arabic, pectin, and inulin) and microencapsulation processes. In **Chapter 2**, AA microcapsules were produced using gelatin and gum arabic as wall materials by complex coacervation. The microcapsules were assessed for morphology (by optical microscopy and scanning electron microscopy), water activity (A_w), hygroscopicity, water solubility, encapsulation efficiency (EE), thermal behavior, stability during 60 days of storage and release profile of the active material at different pH values (1.1, 2.2, 5.4, 7.4, 9.6 and 12). The microcapsules presented an EE that varied from 27 to 94%, low solubility in water, and low values of hygroscopicity. The thermal stability increased dramatically from 311 °C to 456 °C following the microencapsulation process. The release of AA was slower in media with pH 7.4, with release of 96% at 300 min of analysis. In **Chapter 3**, gelatin and pectin were used as wall materials in the microencapsulation of AA by complex coacervation. The physicochemical characteristics and the release profile in simulated gastric and intestinal fluids were evaluated. The microcapsules showed an EE that varied from 24 to 94%, low values of hygroscopicity, and low solubility in water. The release profile of the microencapsulated AA was more pronounced in gastric fluid (pH 1.8) and slower in intestinal fluid (pH 6.8). The sample with a concentration of 2.0 g/100 mL of wall material and 50% of core had the best in vitro release profile, with only 68% release of AA in 120 min in the presence of gastric fluid. In **Chapter 4**, gelatin and inulin were used as wall materials in the microencapsulation of AA by double emulsion (A/O/A) followed by lyophilization. The thermal stability and physicochemical characteristics of the microencapsulated AA were evaluated. The microcapsules presented low A_w and low hygroscopicity. The solubility in water varied from 12 to 50% and the EE ranged from 20 to 91%. The sample containing 7.5 g/100 mL wall material and 50% core was the most stable, with a retention of 60% AA after 60 days of storage. The thermal stability of the encapsulated AA increased considerably, from 224 °C to 412 °C. The results obtained in this study indicate that the AA microcapsules present great potential for application in food matrices.

key words: microencapsulation, double emulsion, vitamin C, release, thermal stability, encapsulation efficiency.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 1

Figura 1.1	Estrutura química do ácido ascórbico.....	20
Figura 1.2	Reação de oxidação sequencial do L-AA.....	21
Figura 1.3	Fatores que afetam a degradação do L-AA.....	22
Figura 1.4	Modelos de microcápsulas.....	26
Figura 1.5	Representação esquemática do método de coacervação.....	29
Figura 1.6	Estrutura molecular da goma arábica.....	35
Figura 1.7	Estruturas moleculares da pectina com baixo teor de metoxilação (a) e com alto teor de metoxilação (b).....	37
Figura 1.8	Estrutura química da inulina.....	38
Figura 1.9	Estrutura química da 1-kestose (GF ₂), nistose (GF ₃), frutofuranosil nistose (GF ₄).....	39
Figura 1.10	Estrutura química da gelatina, responsável pela conformação em tripla hélice.....	42
Figura 1.11	Mecanismos de liberação controlada de ingredientes encapsulados.....	44

CAPÍTULO 2

Figura 2.1	Produção das microcápsulas de ácido ascórbico por coacervação complexa.....	55
Figura 2.2	Efeito do pH na mudança de turbidez para a mistura do par polimérico gelatina:goma arábica na proporção de 1:1 (v/v).....	65
Figura 2.3	Estabilidade das emulsões simples A/O.....	65
Figura 2.4	Microscopia ótica das microcápsulas de AA antes do processo de liofilização com aumento de 1000X.....	73
Figura 2.5	Micrografias das microcápsulas de AA liofilizadas das amostras S1 (2,5 g/100 mL e 25% de núcleo) e S2 (2,5 g/100 mL e 50% de núcleo) com aumento de 200 (A) e 23000X (B).....	74
Figura 2.6	Micrografias das microcápsulas de AA liofilizadas das amostras S3 (2,5 g/100 mL e 75% de núcleo) e S4 (5,0 g/100 mL e 25% de núcleo) com aumento de 200 (A) e 20000X (B).....	75
Figura 2.7	Micrografias das microcápsulas de AA liofilizadas das amostras S5 (5,0 g/100 mL e 50% de núcleo) com aumento de 200 (A) e 23000X (B) e S6 (5,0 g/100 mL e 75% de núcleo) com aumento de 200 (A) e 20000X (B).....	76
Figura 2.8	Micrografias das microcápsulas de AA liofilizadas das amostras S7 (7,5 g/100 mL e 25% de núcleo) com aumento de 200 (A) e 23000X (B) e S8 (7,5 g/100 mL e 50% de núcleo) com aumento de 200 (A) e 20000X (B).....	77
Figura 2.9	Micrografias das microcápsulas de AA liofilizadas da amostra S9 (7,5 g/100 mL e 75% de núcleo) com aumento de 200 (A) e 5000X (B).....	78

Figura 2.10	Micrografias das microcápsulas da amostra S8 (7,5 g/100 mL e 50% de núcleo): (A) microscopia óptica das microcápsulas coacervadas; (B) microscopia óptica das microcápsulas liofilizadas com aumento de 1600 X; (C) microscopia eletrônica de varredura das microcápsulas liofilizadas com aumento de 30 X; (D) microscopia eletrônica de varredura das microcápsulas liofilizadas com aumento de 2700 X.....	79
Figura 2.11	Comportamento térmico do AA puro, gelatina, goma arábica e das microcápsulas da amostra S8.....	85
Figura 2.12	Comportamento térmico das microcápsulas de AA e de suas respectivas derivadas.....	86
Figura 2.13	Espectros obtidos por FTIR das amostras S1 a S9.....	88
Figura 2.14	Espectros obtidos por FTIR da gelatina, goma arábica, AA puro e da amostra S8.....	90
Figura 2.15	Perfil de liberação das microcápsulas da amostra S8 em (A) pH 1,1 (■) e 7,4 (◄), (B) 2,2 (●) e 5,4 (▲), as linhas correspondem aos modelos que melhor descreveram os conjuntos de dados: ordem 0 (----), segunda ordem (····) e modelo proposto (—).....	96
Figura 2.16	Perfil de liberação das microcápsulas da amostra S8 em 9,6 (♦) e 12,0 (►). as linhas correspondem aos modelos que melhor descreveram os conjuntos de dados: ordem 0 (----), segunda ordem (····) e modelo proposto (—).....	97

CAPÍTULO 3

Quadro 3.1	Formulação dos fluidos gástrico e intestinal utilizados no estudo de liberação.....	107
Figura 3.1	Avaliação do perfil de liberação em fluidos gástrico e intestinais simulados.....	107
Figura 3.2	Efeito do pH na mudança de turbidez para a mistura do par polimérico gelatina:pectina na proporção de 1:1 (v/v).....	108
Figura 3.3	Superfície de resposta para os efeitos da concentração do material de parede e proporção do núcleo na eficiência de encapsulação.....	112
Figura 3.4	Microscopia ótica das microcápsulas de AA antes do processo de liofilização com aumento de 1000X.....	114
Figura 3.5	Micrografias das microcápsulas de AA liofilizadas das amostras S1 (1,0 g/100 mL e 25% de núcleo) com aumento de 60X (A) e 20000X (B) e S2 (1,0 g/100 mL e 50% de núcleo) com aumento de 60X (A) e 5000X (B).....	115
Figura 3.6	Micrografias das microcápsulas de AA liofilizadas das amostras S3 (1,0 g/100 mL e 75% de núcleo) e S4 (2,0 g/100 mL e 25% de núcleo) com aumento de 60X (A) e 5000X (B).....	116
Figura 3.7	Micrografias das microcápsulas de AA liofilizadas das amostras S5 (2,0 g/100 mL e 50% de núcleo) e S6 (2,0 g/100 mL e 75% de núcleo) com aumento de 60X (A) e 5000X (B).....	117

Figura 3.8	Micrografias das microcápsulas de AA liofilizadas das amostras S7 (3,0 g/100 mL e 25% de núcleo) e S8 (3,0 g/100 mL e 50% de núcleo) com aumento de 60X (A) e 5000X (B).....	118
Figura 3.9	Micrografias das microcápsulas de AA liofilizadas da amostra S9 (3,0 g/100 mL e 75% de núcleo) com aumento de 60X (A) e 5000X (B).....	119
Figura 3.10	Micrografias das microcápsulas de AA da amostra S5 (2,0 g/100 mL e 50% de núcleo): microscopia ótica da amostra S5 coacervada (1600 X); (b) microscopia ótica da amostra S5 liofilizada (1600 X); (c) MEV da amostra S5 liofilizada (60 X); (d) MEV da amostra S5 liofilizada (5000 X).....	120
Figura 3.11	Comportamento térmico das microcápsulas da amostra S5, gelatina, pectina e do AA puro e suas respectivas derivadas.....	126
Figura 3.12	Comportamento térmico das microcápsulas de AA e de suas respectivas derivadas.....	127
Figura 3.13	Espectros obtidos por FTIR das amostras S1 a S9.....	129
Figura 3.14	Espectros obtidos por FTIR para (A) AA puro, (B) pectina, (C) amostra S5 e (D) gelatina.....	131
Figura 3.15	Perfil de liberação de microcápsulas de AA em fluidos gástrico e intestinal simulados.....	133

CAPÍTULO 4

Figura 4.1	Comportamento térmico das microcápsulas da amostra S7, gelatina, inulina e do AA puro e suas respectivas derivadas.....	148
------------	---	-----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1.1	Métodos utilizados para a encapsulação e tamanho das microcápsulas obtidas.....	27
Tabela 1.2	Microencapsulação de compostos bioativos por coacervação complexa.....	31
Tabela 1.3	Trabalhos recentes sobre microencapsulação de compostos ativos hidrofílicos.....	32
Tabela 1.4	Liberação de compostos bioativos em diferentes condições.....	45

CAPÍTULO 2

Tabela 2.1	Concentração do emulsificante lipofílico e proporção mássica entre fases aquosa e oleosa das emulsões.....	51
Tabela 2.2	Planejamento experimental.....	51
Tabela 2.3	Velocidades e tempos utilizados no planejamento fatorial completo 3^2	52
Tabela 2.4	Planejamento experimental.....	53
Tabela 2.5	Variáveis e níveis utilizados no planejamento experimental completo 3^2	53
Tabela 2.6	Influência da velocidade e tempo de homogeneização das emulsões na eficiência de encapsulação.....	66
Tabela 2.7	Eficiência de encapsulação (EE), diâmetro médio, umidade, A_w , solubilidade e higroscopicidade das microcápsulas de AA liofilizadas para as diferentes formulações testadas.....	67
Tabela 2.8	Valores de L^* das microcápsulas de AA durante 90 dias de armazenamento.....	79
Tabela 2.9	Valores de a^* das microcápsulas de AA durante 90 dias de armazenamento.....	79
Tabela 2.10	Valores de b^* das microcápsulas de AA durante 90 dias de armazenamento.....	80
Tabela 2.11	Estabilidade das microcápsulas de AA durante 60 dias de armazenamento a 20 °C, expressa em %.....	81
Tabela 2.12	Parâmetros termogravimétricos das amostras, da gelatina, da goma arábica e AA.....	86
Tabela 2.13	Perfil de liberação de AA a partir das microcápsulas da amostra S8 em diferentes valores de pH (valores expressos em %)......	91
Tabela 2.14	Ácido ascórbico liberado em meio com pH 1,1 e 2,2: parâmetros cinéticos e desvios calculados para a equação da lei da potência.....	96
Tabela 2.15	Ácido ascórbico liberado em meio com pH 5,4: parâmetros cinéticos e desvios calculados para a equação da lei da potência.....	97

Tabela 2.16	Ácido ascórbico liberado em meio com pH 7,4: parâmetros cinéticos e desvios calculados para a equação da lei da potência.....	97
Tabela 2.17	Ácido ascórbico liberado em meio com pH 9,6: parâmetros cinéticos e desvios calculados para a equação da lei da potência e para o modelo proposto (PM2).....	97
Tabela 2.18	Ácido ascórbico liberado em meio com pH 12,0: parâmetros cinéticos e desvios calculados para a equação da lei da potência.....	98

CAPÍTULO 3

Tabela 3.1	Planejamento experimental.....	103
Tabela 3.2	Variáveis e níveis utilizados no planejamento experimental completo 3 ²	104
Tabela 3.3	Propriedades físico-químicas das microcápsulas de AA produzidas por coacervação complexa.....	109
Tabela 3.4	Valores de L* das microcápsulas de AA durante 90 dias de armazenamento.....	120
Tabela 3.5	Valores de a* das microcápsulas de AA durante 90 dias de armazenamento.....	120
Tabela 3.6	Valores de b* das microcápsulas de AA durante 90 dias de armazenamento.....	121
Tabela 3.7	Estabilidade das microcápsulas de aa durante 60 dias de armazenamento a 20 °C, expressa em %.....	122
Tabela 3.8	Parâmetros termogravimétricos das amostras, da gelatina, da goma arábica e do AA.....	127

CAPÍTULO 4

Tabela 4.1	Planejamento experimental.....	138
Tabela 4.2	Variáveis e níveis utilizados no planejamento experimental completo 3 ²	138
Tabela 4.3	Propriedades físico-químicas das microcápsulas de AA liofilizadas.....	141
Tabela 4.4	Estabilidade das microcápsulas de AA durante 60 dias de armazenamento a 20 °C, expressa em %.....	143
Tabela 4.5	Parâmetros termogravimétricos da amostra S7, da gelatina, da inulina e AA.....	145

LISTA DE SIGLAS

AA	Ácido ascórbico
ATM	Pectina de alta esterificação
BTM	Pectinas de baixa esterificação
DE	Grau de esterificação
DHAA	Ácido L-deidroascórbico
EE	Eficiência de encapsulação
FOS	Frutooligossacarídeos
FTIR	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier
GP	Grau de polimerização
L-AA	Ácido L-ascórbico
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
pH	Potencial hidrogeniônico

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	17
OBJETIVOS.....	18
OBJETIVO GERAL	18
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
CAPÍTULO 1	19
1 REVISÃO DE LITERATURA	20
1.1 ÁCIDO ASCÓRBICO.....	20
1.2 MICROENCAPSULAÇÃO	25
1.2.1 Microencapsulação por coacervação	28
1.2.2 Materiais de parede.....	33
1.2.2.1 Goma Arábica	34
1.2.2.2 Pectina	36
1.2.2.3 Inulina e Frutooligossacarídeos (FOS).....	38
1.2.2.4 Gelatina	41
1.3 LIBERAÇÃO CONTROLADA.....	43
CAPÍTULO 2	47
Avaliação das características físico-químicas, estabilidade térmica e perfil de liberação de microcápsulas de ácido ascórbico obtidas por coacervação complexa.....	48
1 INTRODUÇÃO	48
2 MATERIAL E MÉTODOS	50
2.1 MATERIAIS	50
2.2 MÉTODOS	51
2.2.1 Determinação do pH de coacervação	51
2.2.2 Determinação da concentração de emulsificante.....	51
2.2.3 Determinação da velocidade e do tempo de homogeneização da emulsão simples	52
2.2.4 Preparação das microcápsulas do ácido ascórbico por coacervação complexa	54

2.2.5 Caracterização das microcápsulas.....	56
2.2.5.1 Eficiência de encapsulação (EE).....	56
2.2.5.2 Diâmetro médio	58
2.2.5.3 Atividade de água (A_w) e umidade	58
2.2.5.4 Solubilidade e higroscopicidade	58
2.2.5.5 Morfologia das microcápsulas	59
2.2.6 Análise de cor.....	59
2.2.7 Estabilidade das microcápsulas	60
2.2.8 Análise térmica	60
2.2.9 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	60
2.2.10 Perfil de liberação.....	60
2.2.11 Modelagem matemática da liberação de AA	61
2.2.12 Análise de dados	63
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
3.1 Determinação do pH de coacervação	64
3.2 Estabilidade das emulsões simples.....	65
3.3 Determinação da velocidade e do tempo de homogeneização	66
3.3 Caracterização das microcápsulas.....	67
3.3.1 Eficiência de encapsulação (EE), diâmetro médio, umidade, atividade de água (A_w), solubilidade e higroscopicidade	67
3.3.2 Morfologia.....	72
3.4 Análise de cor.....	79
3.5. Estabilidade do ácido ascórbico	81
3.6 Análise térmica	83
3.7 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	88
3.8 Perfil de liberação do ácido ascórbico	91
3.9 Modelagem matemática de liberação de AA	93
4 CONCLUSÃO	99
CAPÍTULO 3	100
Ácido ascórbico microencapsulado: desenvolvimento, caracterização e perfil de liberação em fluidos gastrintestinais simulados.....	101

1 INTRODUÇÃO	101
2 MATERIAL E MÉTODOS	103
2.1 MATERIAIS	103
2.2 MÉTODOS	103
2.2.1 Determinação do pH de coacervação	104
2.2.2 Preparação das microcápsulas	104
2.2.3 Caracterização das microcápsulas.....	106
2.2.4 Cor instrumental, estabilidade das microcápsulas, análise térmica e espectroscopia no infravermelho por transformada de fourrier	106
2.2.5 Perfil de liberação em fluidos gástrico e intestinal simulados.....	106
2.2.6 Análise de dados	108
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	108
3.1 Determinação do pH de coacervação	108
3.2 Caracterização das microcápsulas.....	109
3.2.1 Eficiência de encapsulação (EE), diâmetro médio, umidade, atividade de água (A _w), solubilidade e higroscopicidade.....	109
3.2.2 Morfologia.....	114
3.3 Análise de cor.....	120
3.4 Estabilidade das microcápsulas de AA	122
3.4 Análise térmica.....	123
3.5 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	129
3.6 Perfil de liberação em fluidos gástrico e intestinal simulados.....	132
4 CONCLUSÃO	134
 CAPÍTULO 4	 135
Microcápsulas de AA obtidas a partir da emulsão dupla (A/O/A) seguida de liofilização utilizando a inulina e a gelatina como materiais de parede	135
1 INTRODUÇÃO	136
2 MATERIAL E MÉTODOS	138
2.1 MATERIAIS	138
2.2 MÉTODOS	138
2.2.1 Planejamento experimental	138

2.2.2 Preparação das emulsões.....	139
2.2.3 Caracterização das microcápsulas.....	140
2.2.3.1 Eficiência de encapsulação (EE), teor de umidade e atividade de água (A_w), solubilidade e higroscopicidade.....	140
2.2.4. Estabilidade das microcápsulas de AA e análise térmica.....	140
2.2.6 Análise estatística	140
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	141
3.1 Propriedades físico-químicas das microcápsulas de AA.....	141
3.2 Estabilidade das microcápsulas de AA	144
3.3 Análise térmica	145
4 CONCLUSÃO	149
CONSIDERAÇÕES FINAIS	150
REFERÊNCIAS.....	152
APÊNDICE 1	170
ANEXO I.....	172
ANEXO II.....	173

INTRODUÇÃO GERAL

O ácido L-ascórbico (AA) é um composto bioativo conhecido por seus benefícios à saúde, pois exibe a atividade biológica de vitamina C. Além da função nutricional, o AA tem sido muito utilizado pela indústria alimentícia como aditivo devido às suas propriedades antioxidantes e redutoras. Infelizmente, este aditivo é altamente instável e reativo quando exposto a fatores ambientais, como variações de temperatura e pH, presença de luz, altas concentrações de oxigênio e altos valores de atividade de água, limitando sua aplicação em determinados alimentos. A natureza altamente instável do AA é um desafio para que as indústrias alimentícias consigam incorporá-lo em diferentes formulações sem perder suas propriedades funcionais.

A microencapsulação tem sido uma das alternativas que as indústrias alimentícias vêm buscando para proteger o material microencapsulado das condições adversas do meio, como a luz, umidade, oxigênio, interações com outros compostos, assim como promover a liberação controlada do agente ativo em condições pré-estabelecidas. Por se tratar de um composto hidrofílico, o AA não pode ser microencapsulado diretamente pelo processo de coacervação complexa, pois é necessário a adição de uma etapa de emulsificação da solução contendo o AA em água (emulsão do tipo água em óleo) antes do processo de coacervação complexa.

Portanto, a escolha da técnica, assim como do material de parede, se baseia na consideração de diversos fatores, como as características físico-químicas do material de parede e do composto ativo e, principalmente, sua aplicação final. Como os resultados das pesquisas sobre a microencapsulação de alguns compostos bioativos e aditivos alimentares têm se mostrado promissores, a técnica é uma alternativa viável para solucionar as dificuldades na incorporação de compostos instáveis em alimentos.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver, caracterizar e avaliar o perfil de liberação do ácido ascórbico microencapsulado por coacervação complexa e por liofilização. Diferentes materiais de parede sob diferentes concentrações foram testados a fim de encontrar as melhores formulações.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

O presente trabalho teve como objetivo avaliar as condições para a obtenção de microcápsulas de ácido ascórbico por coacervação complexa e por liofilização.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Estabelecer as condições para a obtenção de uma emulsão simples (A/O) de ácido ascórbico em óleo a ser utilizada na coacervação complexa;
- ✓ Avaliar as microcápsulas de ácido ascórbico obtidas utilizando os pares gelatina/goma arábica e gelatina/pectina como materiais de parede em diferentes concentrações por coacervação complexa;
- ✓ Avaliar as microcápsulas de ácido ascórbico obtidas a partir da emulsão dupla (A/O/A) utilizando a gelatina e a inulina como materiais de parede em diferentes concentrações por liofilização;
- ✓ Determinar a melhor concentração dos materiais de parede e proporção do núcleo das microcápsulas de ácido ascórbico nos processos de coacervação complexa e de emulsão dupla (A/O/A) seguida de liofilização;
- ✓ Avaliar as características físico-químicas, a estabilidade e o comportamento térmico das microcápsulas de ácido ascórbico;
- ✓ Avaliar o perfil de liberação das microcápsulas de ácido ascórbico em meios com diferentes valores de pHs e em fluidos gástrico e intestinal simulados.

CAPÍTULO 1

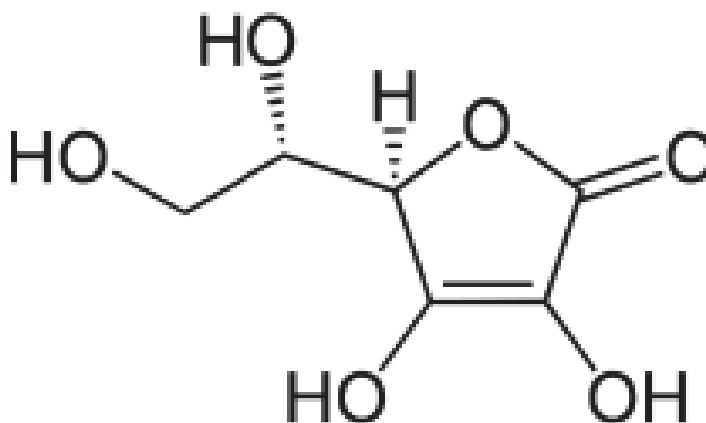
REVISÃO DE LITERATURA

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 ÁCIDO ASCÓRBICO

O ácido ascórbico (AA) foi isolado pela primeira vez em 1928, pelo médico Albert Szentgyorgyi, que lhe deu o nome de ácido hexurônico. Porém somente em 1932 o composto foi isolado em sua forma pura e cristalina. Em 1938 o AA foi aceito com o nome químico de vitamina C. O nome AA surgiu em função da sua prevenção ao escorbuto, doença comum naquela época entre os marinheiros durante as longas expedições marítimas. Alguns sintomas do escorbuto (deficiência de vitamina C) envolvem o comprometimento das articulações, o aparecimento de inflamações na gengiva, levando à perda de dentes, hemorragias e a deterioração do sistema imunológico, podendo causar a morte do indivíduo (ARANHA et al., 2000). A molécula do AA está esquematizada na Figura 1.1, onde seus grupos funcionais e ligações químicas estão visíveis.

Figura 1.1 – Estrutura química do ácido ascórbico.



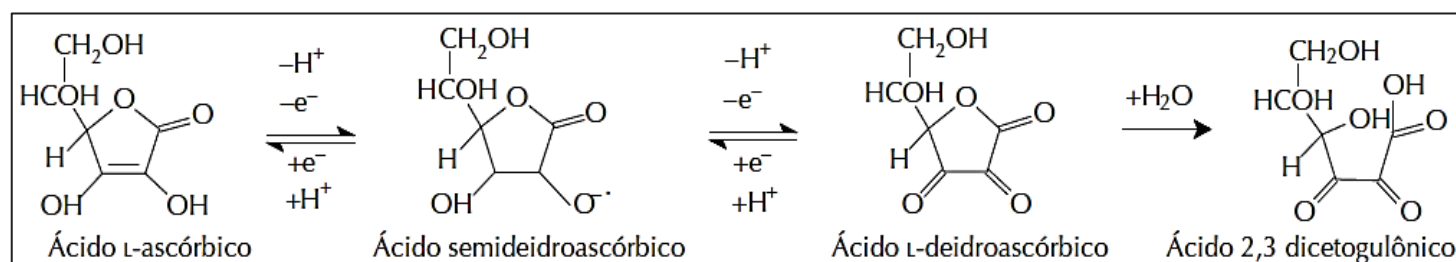
Fonte: Abbas et al. (2012).

Com fórmula molecular $C_6H_8O_6$, é uma substância cristalina de coloração branca, sem odor, apresenta sabor ácido, peso molecular é de 176,13 g/mol, temperatura de fusão de aproximadamente 192 °C, potencial redox 0,166V em pH de 4,0, pKa 4,17 e pKa2 11,57 (pKa é a constante ácida - quanto mais ácido o material menor será seu pKa), sua absorção máxima é em 245 nm quando em pH ácido e 265 nm em pH neutro (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010).

O AA é altamente polar e por isso é solúvel em soluções aquosas (0,33 g/mL) é levemente solúvel em etanol, ácido acético e acetonitrila e insolúvel em solventes de baixa polaridade como éter, clorofórmio e benzeno. Em sua forma pura e cristalina, é estável à exposição ao ar, à luz e à temperatura ambiente por um longo período de tempo (ARANHA et al., 2000). Em soluções aquosas e quando presente em alimentos, sua estabilidade está diretamente relacionada às condições de armazenagem e composição da solução ou matriz.

As melhores fontes de AA fontes são as frutas frescas, especialmente frutas cítricas, e vegetais de folhas verdes, pode ser encontrado em menor quantidade, em tecidos animais e produtos derivados. Pode ser encontrado de forma natural quase exclusivamente em sua forma reduzida ácido L-ascórbico (L-AA). O L-AA é convertido em ácido L-deidroascórbico (DHAA) devido a oxidação envolvendo dois elétrons e a dissociação do hidrogênio. Este possui, aproximadamente a mesma atividade de vitamina que o AA. A Figura 1.2 apresenta a reação sequencial do L-AA. A reação de oxidação do L-AA pode ocorrer pelos processos de transferência de elétrons simples ou dupla, sem detecção do intermediário semideidroascorbato. A primeira etapa envolve a transferência de elétrons para a formação de radicais livres semi-DHAA. A perda de um elétron adicional forma o DHAA, o qual é altamente instável devido a sua suscetibilidade à hidrólise da ponte de lactona. Essa hidrólise forma o ácido 2,3-dicetogulônico de forma irreversível, nesta etapa ocorre a perda da atividade da vitamina C (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010).

Figura 1.2 – Reação de oxidação sequencial do L-AA.



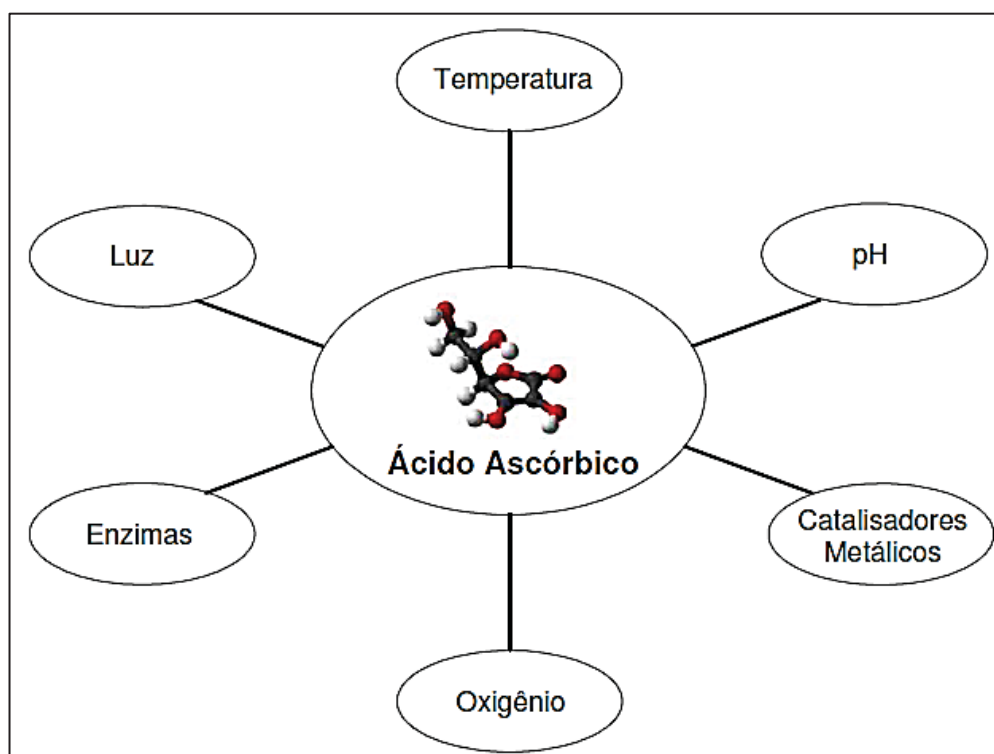
Fonte: Damodaran, Parkin e Fennema (2010).

Além da função nutricional, o AA é utilizado como ingrediente/aditivo de alimentos devido às suas propriedades antioxidante e redutora. Na indústria de alimentos o AA é amplamente utilizado na cura de carne e na inibição do escurecimento enzimático de frutas e vegetais. Pode ser adicionado ao alimento por

meio de ácidos não dissociados ou neutralizados, como o sal de sódio (ascorbato de sódio). A oxidação pode ocorrer pelos processos de transferência de elétrons simples ou dupla, sem detecção do intermediário semideidroascorbato. Além do seu papel na cura de carne e inibição do escurecimento enzimático de frutas e vegetais, o ácido ascórbico adicionado ao alimento tem como funções: ação redutora em massas acondicionadas, proteção de alguns compostos oxidáveis (por exemplo, folato) por efeitos redutores da desativação de radicais livres e de oxigênio, inibição da formação de nitrosaminas em carnes curadas e redução de íons de metais (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010).

A degradação do AA é influenciada por fatores como calor, luz, altos valores de pH, alta concentração de oxigênio, altos valores de atividade de água e reações catalisadas por íons metálicos de transição como Cu^{2+} e Fe^{3+} (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010). Em soluções aquosas e em alimentos, sua estabilidade está diretamente relacionada às condições de armazenagem e composição da solução ou matriz. A Figura 1.3 representa os fatores que mais influenciam na degradação do AA.

Figura 1.3 - Fatores que afetam a degradação do L-AA.



Fonte: Santos (2008).

Devido aos fatores que afetam a estabilidade do AA, uma variedade de métodos tem sido proposta para aumentar a estabilidade do AA, entre eles a microencapsulação. Vários autores têm pesquisado a microencapsulação do AA por meio de técnicas como o *spray drying*, *spray chilling* e coacervação complexa com diferentes materiais de parede, como no estudo realizado por Trindade e Grosso (2008), que utilizaram a goma arábica e o amido de arroz como materiais de parede na microencapsulação do AA por *spray drying*. As microcápsulas produzidas com goma arábica apresentaram diâmetros de 8 μm , enquanto que as microcápsulas de amido de arroz apresentaram diâmetros de 5 até 40 μm . A estabilidade do AA microencapsulado foi estudada em temperatura ambiente, com umidade relativa entre 60 e 65% e a 45 °C e com umidades de 60, 65 e 90,7%. Neste estudo os autores concluíram que as partículas produzidas com goma arábica foram mais estáveis do que as elaboradas com amido de arroz.

Lee et al. (2004) microencapsularam AA com monoestearato de poliglicerol para a fortificação de leite. Obtiveram eficiência de encapsulação em torno de 94,2 % e a liberação de AA microencapsulado aumentou de 1,6 para 6,7% em 5 dias de armazenamento. Pierucci et al. (2006) utilizaram proteína isolada de ervilha, CMC e maltodextrina como materiais de parede na microencapsulação do AA pela técnica de *spray drying*. Neste estudo foi obtido um rendimento em torno de 84% para todos os materiais estudados, diâmetros de partícula menores que 8 μm e uma liberação do AA encapsulado mais lenta do que na forma pura. Os autores concluíram que a proteína isolada de ervilha pode ser utilizada na microencapsulação do AA.

Pereira et al. (2009) microencapsularam AA utilizando proteína isolada de ervilha, de feijão de corda e maltodextrina como materiais de parede por *spray drying*. O rendimento das partículas AA foi de 79 %. As partículas microencapsuladas com a proteína isolada de ervilha apresentaram maior eficiência de encapsulação (69%) quando comparadas com as partículas utilizando a proteína isolada de feijão de corda (66%). Este estudo mostrou que a exploração de proteínas isoladas a partir de leguminosas no desenvolvimento de um sistema de micropartículas contendo AA possui grande potencial.

Comunian et al. (2013) pesquisaram a microencapsulação do AA pela técnica de coacervação complexa, utilizando a goma arábica e a gelatina como materiais de parede. Foram testadas nove formulações de microcápsulas contendo gelatina, goma arábica e AA em diferentes proporções. Os resultados obtidos mostraram que todas

as formulações de microcápsulas apresentaram formato esférico, multinucleadas com uma eficiência de encapsulação de aproximadamente 98%. A conclusão dos autores foi que o AA microencapsulado é mais estável do que em solução nas condições testadas, o que possibilita sua utilização em sistemas onde a liberação controlada é desejada. Sartori et al. (2015) produziram micropartículas lipídicas sólidas contendo AA com a técnica de *spray chilling*. Diferentes proporções de ácido láurico e oleico foram utilizadas como material de parede. As partículas produzidas apresentaram valores de eficiência total de 89% a 98% e a eficiência efetiva foi de 58% a 88%. A proporção entre os ácidos graxos utilizados como materiais de parede foi o que mais afetou as características das partículas e não a proporção entre o material de parede e o núcleo.

No estudo desenvolvido por Matos-Jr et al. (2015) também com *spray chilling*, foram produzidas micropartículas lipídicas sólidas carregadas com 15, 25 e 40% (m/m) de AA. O óleo de palma totalmente hidrogenado e o monoestearato de glicerol foram utilizados como transportadores. O rendimento do processo foi superior a 81% e a eficiência de encapsulação variou de 74 a 84%. O tipo de transportador e a concentração de AA não influenciaram significativamente na estabilidade do AA. Alvim et al. (2016) compararam as características de partículas contendo AA produzidas por *spray drying* e *spray chilling*. O material de parede utilizado no *spray drying* foi a goma arábica, e para o *spray chilling* foi o ácido esteárico e a gordura vegetal hidrogenada. As micropartículas obtidas pelos dois métodos mostraram eficiências de encapsulação superiores a 97%. As micropartículas obtidas por *spray drying* proporcionaram um efeito protetor maior do que as produzidas por *spray chilling*. Ambos os métodos de microencapsulação podem ser utilizados para obter micropartículas de proteção como veículos potenciais na aplicação de substâncias sensíveis em produtos de panificação.

De Matos-Jr et al. (2017) avaliaram o efeito da forma de alimentação (dispersão ou emulsão) sobre a produção de micropartículas lipídicas sólidas (SLM) carregadas com AA usando gordura interesterificada como agente transportador. A eficiência de encapsulação variou de 59 a 73%, de acordo com o tipo de alimentação utilizada. A estabilidade do AA após 60 dias de armazenamento foi acima dos 70%, mesmo após o armazenamento a 37 °C.

Diante da importância do AA para a indústria de alimentos faz-se necessário pesquisar técnicas e identificar os materiais de parede mais adequados para cada

aplicação. Neste contexto, a microencapsulação do AA surge como uma alternativa para solucionar as dificuldades encontradas na incorporação do AA em alimentos.

1.2 MICROENCAPSULAÇÃO

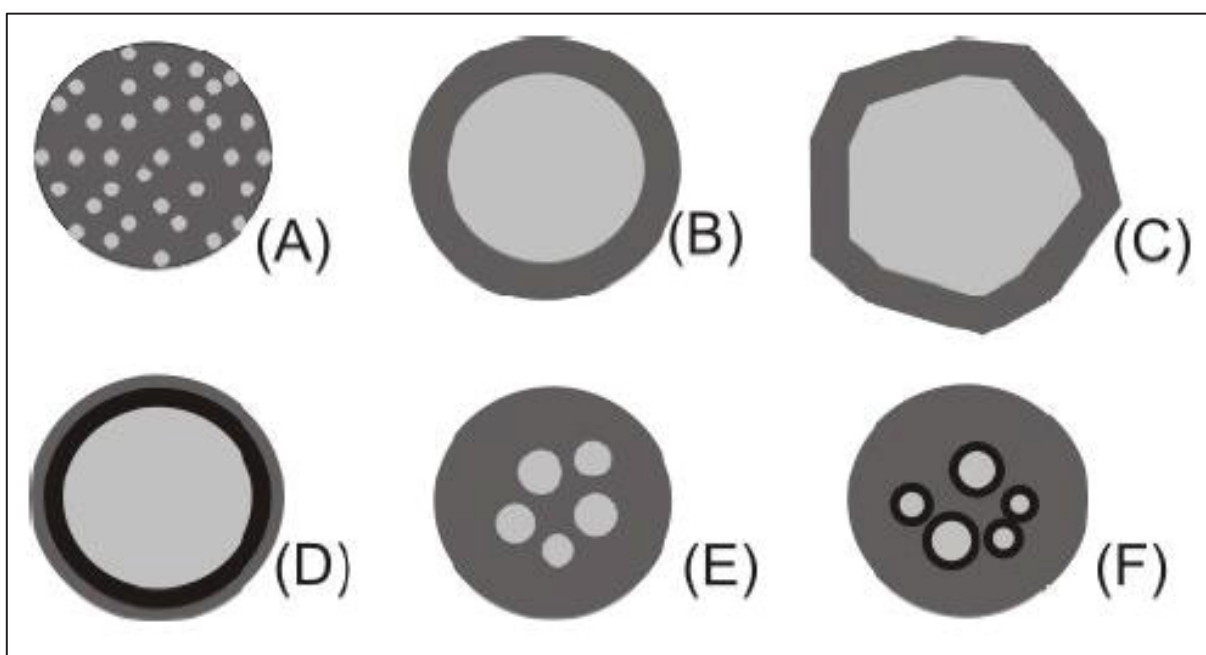
Os primeiros estudos da técnica de microencapsulação foram registrados na década de 30, na área farmacêutica, como uma técnica denominada *pan coating* para a obtenção de partículas maiores que 600 μm (SANTOS, FERREIRA e GROSSO, 2000). A partir daquele momento, a técnica de microencapsulação tem sido estudada e empregada em diversas áreas industriais, como a farmacêutica, química, agroquímica e alimentícia. A microencapsulação de microrganismos probióticos, enzimas, corantes, acidulantes e compostos voláteis responsáveis pelo aroma e sabor dos alimentos tem sido cada vez mais explorada (AZEREDO, 2005; DESAI e PARK, 2005; FAVARO-TRINDADE et al., 2008).

Microencapsulação é definida como um processo em que pequenas partículas sólidas, líquidas ou gasosas são cercadas por um revestimento, ou são incorporados a uma matriz homogênea ou heterogênea para a obtenção de pequenas microcápsulas com diversas propriedades e aplicações. O material a ser encapsulado é chamado de núcleo, material ativo ou fase interna, enquanto que o material de revestimento é chamado de material de parede, carreador, membrana ou casca. O núcleo pode ser composto por um ou mais ingredientes e o material de parede pode ser formado por uma ou mais camadas (ABBAS et al., 2012; COMUNIAN e FAVARO-TRINDADE, 2016; GHARSALLAOUI et al., 2007; GIBBS et al., 1999; SUAVE et al., 2006). As microcápsulas obtidas podem apresentar diâmetros que variam entre unidades de micrômetros até milímetros e apresentam diversas formas, dependendo dos materiais e métodos usados para sua obtenção. Quanto ao tamanho, as partículas obtidas no processo de microencapsulação podem ser divididas em macro ($> 500 \mu\text{m}$), micro (2-500 μm) e nanocápsulas ($< 0,2 \mu\text{m}$) (RÉ, 1998).

Quanto à morfologia, as microcápsulas podem ser divididas em dois grupos: microcápsulas, onde o núcleo é nitidamente concentrado na região central, circundado por um filme definido e contínuo do material de parede, e microcápsulas onde o núcleo é disperso em uma matriz de maneira uniforme. O primeiro grupo é classificado como sistema do tipo reservatório e caracteriza as “verdadeiras” microcápsulas. O segundo grupo é classificado como sistema matricial e resulta nas denominadas esferas

(MATIOLI e RODRIGUEZ-AMAYA, 2003). A diferença entre as microcápsulas e as esferas está no fato de que, nas esferas, o material encapsulado permanece exposto na superfície, o que é evitado pela verdadeira microencapsulação (DEPYPERE et al., 2003). As microcápsulas podem ter ainda mais de um núcleo, ou várias paredes para um mesmo núcleo (CONSTANT e STRINGHETA, 2002), como pode ser observado na Figura 1.4.

Figura 1.4 – Modelos de microcápsulas.



(A): Matriz (esfera); (B): Microcápsula simples; (C): Simples, irregular; (D): Duas paredes; (E): Vários núcleos; (F): Agrupamento de microcápsulas.
Fonte: Arshady (1993); Gibbs et al. (1999).

A indústria de alimentos tem utilizado com sucesso a microencapsulação por diversos motivos, e alguns deles são citados a seguir (ARSHADY, 1993; DESAI e PARK, 2005; JACKSON e LEE, 1991; MADENE et al., 2006; PAULO e SANTOS, 2017; RÉ, 1998; SANTOS, FERREIRA e GROSSO, 2000):

- ✓ Aumentar a vida útil do material encapsulado;
- ✓ Transformar o uso de líquidos em sistemas desidratados;
- ✓ Proteger o material ativo de fatores ambientais como a temperatura, a luz, o oxigênio e a umidade;
- ✓ Diminuir as taxas de evaporação de compostos voláteis ou de transferência do material ativo para o meio em que se encontra;
- ✓ Separar materiais reativos, evitando interações entre eles;

- ✓ Modificar as características físicas do material, como a redução da higroscopicidade, formação de aglomerados, dispersão uniforme do material ativo em misturas e manutenção da integridade da estrutura;
- ✓ Controlar a liberação do material ativo até o momento desejado ou sob estímulo adequado e mascarar propriedades indesejáveis, como sabor e odor do material ativo.

As características das microcápsulas podem ser alteradas conforme a sua aplicação, tais como: composição, mecanismo de liberação, tamanho de partícula, morfologia e custo. Porém, uma série de questões devem ser levadas em consideração na escolha do processo de microencapsulação como por exemplo: a funcionalidade que o ingrediente a ser encapsulado deve fornecer ao produto final; o tipo de material de parede que pode ser utilizado; as condições de processamento às quais o material encapsulado deve resistir sem liberar seu conteúdo; a concentração ótima de material ativo no interior da microcápsula; o mecanismo de liberação do recheio; as necessidades de tamanho de partícula, densidade e estabilidade e principalmente, o limite de custo do material encapsulado (DESAI e PARK, 2005).

Os métodos utilizados podem ser divididos em métodos físicos, químicos e físico-químicos (DESAI e PARK, 2005; MADENE et al., 2006; SHAHIDI e HAN, 1993):

- ✓ Métodos físicos: *spray drying*, *freeze drying*, *spray cooling*, *spray chilling*, *spray coating*, extrusão, extrusão centrífuga, leite fluidizado, co-cristalização;
- ✓ Métodos químicos: polimerização interfacial, polimerização;
- ✓ Métodos físico-químicos: coacervação simples e complexa, lipossomas, lipoesferas, evaporação de solvente, inclusão molecular.

Entre os métodos físicos mais conhecidos estão o *spray drying* (secagem de gotículas líquidas em uma corrente gasosa de ar quente), o *spray cooling* (solidificação de gotículas líquidas por resfriamento) e a extrusão (modelagem de esferas por meios mecânicos). Entre os métodos químicos, destacam-se a inclusão molecular (encapsulação de moléculas por outras) e a polimerização interfacial (reação de polimerização no limite entre duas soluções, sendo que uma delas contém o material ativo em suspensão). Os métodos físico-químicos mais estudados são a coacervação ou separação de fases (separação do polímero encapsulante do meio líquido e sua precipitação na superfície do material ativo disperso no mesmo meio) e o

envolvimento lipossômico (encapsulação por membranas lipídicas) (RÉ, 2000). O processo de encapsulação por coacervação complexa é indicado quando o objetivo é controlar a liberação do composto ativo.

A Tabela 1.1 apresenta alguns métodos utilizados para a microencapsulação e as faixas de tamanho das partículas obtidas em cada processo.

Tabela 1.1 – Métodos utilizados para a encapsulação e tamanho das microcápsulas obtidas.

Mecanismo de encapsulação	Técnica de encapsulação	Tamanho da partícula (µm)
Físicos	<i>Spray drying</i>	10 -150
	<i>Spray cooling</i>	20 – 200
	Extrusão	200 – 2000
Químicos	Inclusão molecular	5 -50
	Polimerização interfacial	1 -500
Físico-químicos	Coacervação simples	20 – 500
	Coacervação complexa	1 – 500

Fonte: Adaptado de Madene et al. (2006).

1.2.1 Microencapsulação por coacervação

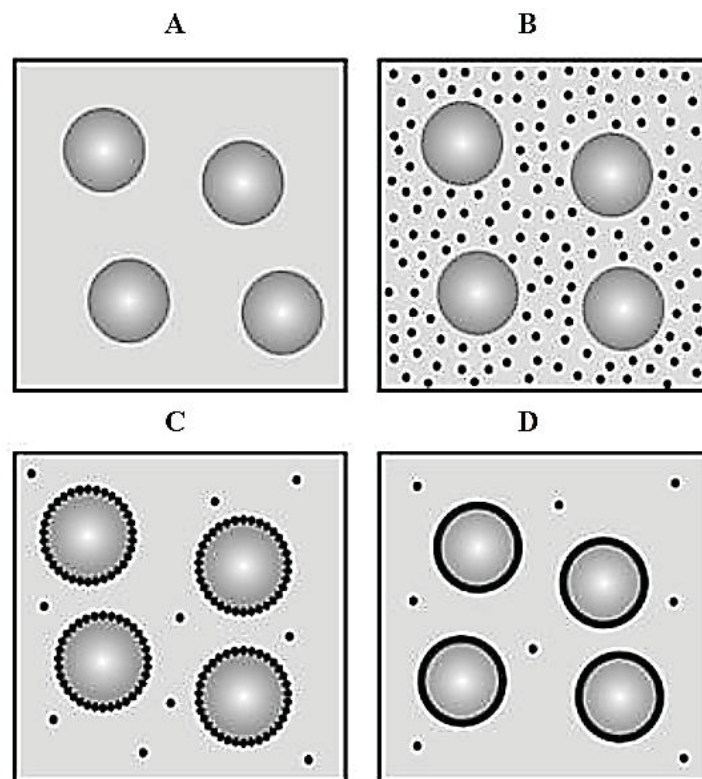
A coacervação é o método de microencapsulação mais antigo e, provavelmente, o mais utilizado (SUAVE et al. 2006). A palavra coacervado vem do latim *co* (juntos) e *acervus* (um monte), que significa união e agregação de partículas (DUCEL et al., 2004; SHAHIDI e HAN, 1993). O termo coacervação foi introduzido pela primeira vez na química por Bungenberg de Jong e Kruyt em 1929 para descrever o fenômeno de agregação macromolecular formando um sistema coloidal em que existem duas fases líquidas: uma rica (coacervado) e a outra pobre em coloides (sobrenadante) (DOUBLIER et al. 2000; GOUIN, 2004).

A microencapsulação por coacervação é a separação de um ou mais hidrocoloides a partir de uma solução inicial e a subsequente deposição da fase coacervada em torno de um ingrediente ativo suspenso ou emulsificado no meio reacional (DOUBLIER et al. 2000; GOUIN, 2004; NORI et al., 2011). O material a ser encapsulado (núcleo) usado na coacervação deve ser compatível com o material de parede e ser insolúvel (ou pouco solúvel) no meio de coacervação (MADENE et al., 2006).

O mecanismo geral da coacervação envolve três etapas (AZEREDO, 2005; DESAI e PARK, 2005).

Na **primeira etapa** há formação de três fases químicas imiscíveis – uma fase líquida que atua como veículo, uma fase do material a ser encapsulado e uma fase do material encapsulante. A fase líquida rica em coloide se separa de uma solução macromolecular, como resultado de uma redução da solubilidade por meios químicos ou físicos, como alteração da temperatura ou do pH e adição de uma solução iônica concentrada. Na **segunda etapa**: a fase rica em coloide se encontra em num estado disperso e se apresenta como gotículas amorfas (coacervado). Em repouso, estas gotículas coalescem, formando uma camada líquida clarificada e homogênea rica em coloide, conhecida como camada de coacervado, a qual se deposita ao redor das gotículas do material ativo num revestimento contínuo, para formar a parede da cápsula. A **terceira etapa** consiste na solidificação do material encapsulante, normalmente por técnicas térmicas, de *cross linking* (ligação cruzada) ou dessolvatação, a fim de se formar cápsulas. O mecanismo geral do processo de encapsulação por coacervação está representado na Figura 1.5.

Figura 1.5 – Representação esquemática do método de coacervação.



A – Deposição das partículas sólidas ou líquidas; B – Indução da fase separação; C – Deposição das partículas (gotas) na superfície; D – Formação da membrana de revestimento.

Fonte: Kissel et al. (2006).

De acordo com os tipos de polímeros presentes no meio, a coacervação pode ser denominada simples ou complexa. Na coacervação simples os sistemas são formados por apenas um polímero, e quando este polímero é misturado a um mau-solvente ou a um não-solvente, ocorrerá separação de fases devido ao favorecimento das interações polímero-polímero. O processo de coacervação usa o fenômeno de desolvatação parcial dos polímeros e sua agregação em resposta às trocas químicas ou físicas no meio (DONG e BODMEIER, 2006; SCHMITT et al., 1998). O fenômeno de coacervação simples é dependente de numerosos parâmetros como pH, força iônica, temperatura e estrutura do polímero (BACHTSI e KIPARISSIDES, 1996; SCHMITT et al., 1998)

A contribuição do pH na formação do coacervado simples ocorre pela modificação do balanço de cargas do polímero, a exemplo da interação da gelatina e a caseína, que formam coacervados desse tipo próximos aos seus respectivos pontos isoelétricos (SCHMITT et al., 1998; SANTINHO et al., 1999; WANG et al., 2000). A força iônica deve ser pequena para a formação de coacervados pelo método simples, pois grandes concentrações de sais podem desestruturar os complexos pela competitividade de cargas entre os sais e os polímeros (SCHMITT et al., 1998).

A coacervação complexa é um fenômeno de separação de fases líquido-líquido que ocorre entre biopolímeros com cargas opostas devido a interação eletrostática (EGHBAL e CHOUDHARY, 2018). Este fenômeno ocorre devido às atrações e às neutralizações das cargas das matrizes formadas pelas cadeias agregadas dos dois polímeros. Esta atração ocorre em condições específicas do meio nas quais os polímeros apresentam cargas totais opostas (KRUIF, WEINBRECK e VRIES, 2004; SCHMITT et al., 1998; THIES, 1995). A obtenção dos coacervados complexos é obtida com a manipulação do pH e da força iônica, pois estes fatores interferem diretamente no perfil de cargas das macromoléculas. Um parâmetro importante para que a coacervação complexa tenha sucesso é a estequiometria de cargas entre os polímeros para determinada condição do meio (SCHMITT et al., 1998; THIES, 1995). A quantidade excessiva de um dos polímeros leva a uma quantidade de cargas excedentes no sistema, o que pode prejudicar a formação do coacervado (SCHMITT et al., 1999). Algumas condições físicas como temperatura, tipo/tempo de agitação e pressão podem influenciar na formação e estabilidade dos coacervados produzidos (SCHMITT et al., 1999; TURGEON et al., 2003).

As microcápsulas produzidas por coacervação apresentam diâmetros em torno de 4 μm e alta eficiência de encapsulação. A eficiência da encapsulação por coacervação está associada às características dos polímeros envolvidos, do complexo formado e do núcleo a ser encapsulado. Outros fatores como a tensão superficial do sistema, a capacidade de adsorção dos polímeros de parede ao núcleo disperso, a polaridade do núcleo e a viscoelasticidade do complexo são propriedades de grande importância para a correta formação da parede e, conseqüentemente, interferem na eficiência de encapsulação do material. Em geral, compostos líquidos ou particulados de caráter hidrofóbico ou partículas sólidas de baixa solubilidade em água são facilmente encapsulados por esse processo (KRUIF, WEINBRECK e VRIES, 2004; THIES, 1995).

A coacervação complexa pode ser utilizada para microencapsular vários compostos bioativos, alguns deles estão apresentados na Tabela 1.2.

Tabela 1.2 – Microencapsulação de compostos bioativos por coacervação complexa.

Materiais de parede	Núcleo	EE (%)	Referência
Proteína isolada de soja/pectina	Própolis	66 a 72	Nori et al. (2011)
Gelatina/pectina	Licopeno	93,2 2,1	Silva et al. (2012)
Gelatina/goma arábica	Oleoresina de cúrcuma	49 a 73	Zuanon, Malacrida e Telis (2013)
Quitosana/k-carragena	Óleo essencial de pimenta	92 a 98	Dima et al. (2014)
Proteína isolada de soro/goma acácia	β -caroteno	70	Jain et al. (2015)
Gelatina/goma arábica	Óleo de Echium	73 a 99	Comunian et al. (2016)
Gelatina/goma de cajueiro			
Gelatina/goma arábica	Sulforafano de sementes de brócolis	17,91	García-Saldaña et al. (2016)
Gelatina/pectina			
Gelatina/goma de cajueiro	Astaxantina de camarão	59,9	Gomez-Estaca et al. (2016)
Gelatina/goma arábica	Fitosteróis e ácido sináptico	91 a 97	Comunian et al. (2017a)
Gelatina/goma de cajueiro	óleo de echium	77 a 90	
Gelatina/goma arábica			
Gelatina/pectina			
Gelatina/CMC	Extrato de canela	65 a 86	De Souza et al. (2018)
Gelatina/ k-carragena			
Gelatina/goma cajueiro			

A maioria das pesquisas com microencapsulação pelo processo de coacervação complexa são de compostos hidrofóbicos, como apresentado na Tabela 1.2. Porém algumas pesquisas têm sido desenvolvidas com a finalidade de microencapsular compostos hidrofílicos por coacervação complexa, como apresentado na Tabela 1.3. Nestes estudos foi necessária a adição de uma etapa de emulsificação do composto ativo hidrofílico em óleo ou emulsões múltiplas, antes da coacervação, transformando o composto ativo hidrofílico em um composto hidrofóbico e assim possibilitando a microencapsulação deste composto por coacervação complexa. A Tabela 1.3 apresenta alguns dos trabalhos desenvolvidos com compostos hidrofílicos.

Tabela 1.3 – Trabalhos recentes sobre microencapsulação de compostos ativos hidrofílicos.

Materiais de parede	Núcleo	EE (%)	Referência
Proteína isolada de soja/pectina	Hidrolisado de caseína	78,8 a 91,6	Mendanha et al. (2009)
Gelatina/goma arábica	Ácido ascórbico	97,3 a 99	Comunian et al. (2013)
Gelatina/goma arábica	Aspartame	45 a 71	Rocha-Selmi et al. (2013a)
Gelatina/goma arábica	Sucralose	43 a 89	Rocha-Selmi et al. (2013b)
Gelatina/goma arábica	Xilitol	31 a 71	Santos et al. (2015)
Gelatina/goma arábica	Antocianinas	61,2 a 89,9	Shaddel et al. (2018)
Gelatina/goma arábica	Ácido ascórbico	27,30 a 93,78%.	Rodrigues da Cruz et al. (2019)

Comparando as EE apresentadas nas Tabelas 1.2 e 1.3, observa-se que é possível microencapsular compostos hidrofílicos e obter EE similares às dos compostos hidrofóbicos.

1.2.2 Materiais de parede

Os materiais de parede ou agentes encapsulantes podem ser definidos como materiais formadores de filmes que são selecionados de uma ampla variedade de polímeros naturais e sintéticos (DESAI e PARK, 2005; SHAHIDI e HAN, 1993). A escolha do material de parede está relacionada com as propriedades físicas e químicas do recheio (encapsulado), com o processo empregado para produção das microcápsulas e a aplicação final destas (JACKSON e LEE, 1991; NORI, 1996).

As principais funções do material de parede são cobrir e dar forma à microcápsula, aumentar a estabilidade, prevenir a perda de componentes voláteis encapsulados, reter o recheio, protegê-lo da oxidação, luz, umidade e do contato com outras substâncias, e permitir a sua liberação quando desejável (JACKSON e LEE, 1991; NORI, 1996).

Os polissacarídeos são muito utilizados nos processos de microencapsulação, devido à sua diversidade e ao seu baixo custo (AZEREDO, 2005; DAVIDOV-PARDO, AROZARENA e MARÍN-ARROYO, 2013). Entre todos os polissacarídeos, os mais utilizados no processo de coacervação complexa são a goma arábica, a pectina, a quitosana, o ágar, o alginato e a carragena. As principais vantagens destes biopolímeros são a sua boa solubilidade em água e a baixa viscosidade em altas concentrações (XIAO et al., 2014).

1.2.2.1 Goma Arábica

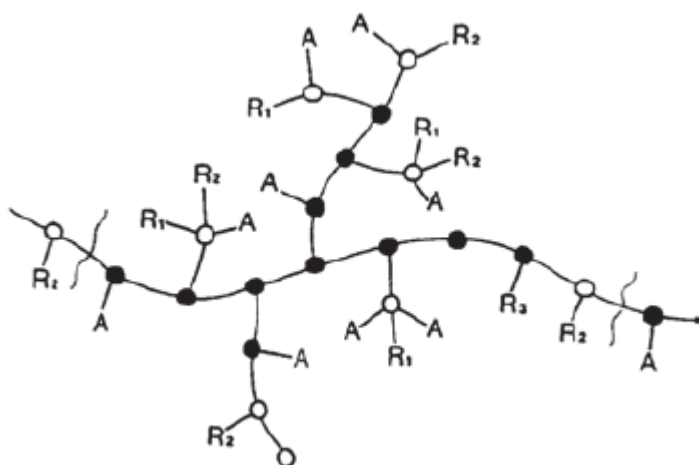
A goma arábica (ou goma acácia) é a mais antiga das gomas conhecidas (2.650 a.C.): há relatos históricos de sua utilização em cosméticos, perfumes, ingredientes para mumificação e cola desde o antigo Egito. A goma arábica é uma goma natural exsudada de determinadas árvores e obtida como resposta à ferida por incisão no tronco e galhos da planta. Cerca de 75% da produção da goma vem da espécie *Acacia Senegal*, e é muito utilizada como agente espessante, emulsificante e estabilizante em sistemas alimentícios devido à sua solubilidade em água (AHMED, RAMASWAMY e NGADI, 2005).

O método de extração e purificação, a espécie, a idade da árvore, assim como as condições do meio ambiente (umidade relativa do ar, temperatura, entre outros) influenciam diretamente na composição química da goma (WILLIAMS e PHILLIPS, 2001). Quimicamente esta goma é um polissacarídeo complexo que apresenta frações com diferentes estruturas químicas. A fração principal (que representa cerca de 70% da goma) é constituída de cadeias de polissacarídeos com pouco ou nenhum material nitrogenado. Há também uma fração que parece ser a responsável pelas suas propriedades emulsificantes e estabilizantes, a fração proteica (cerca de 2%) ligada covalentemente ao carboidrato (MAHENDRAN et al., 2008).

A estrutura da goma arábica é altamente ramificada, formada por unidades de 1,3-β-D-galactopirranose unidas por ligações glicosídicas, às quais estão ligadas

cadeias laterais com diferentes estruturas químicas formadas por D-galactopirranose, L-ramnose, L-arabinose e ácido D-glucurônico, unidas à cadeia principal por ligações $\beta(1,6)$ (DICKINSON, 2003). A Figura 1.6 apresenta a estrutura molecular da goma arábica.

Figura 1.6 - Estrutura molecular da goma arábica.



A: arabinosil ●: β -1,3 galactose, ○: β -1,6 galactose 6-ligada, R₁: ramnose-ácido glucurônico, R₂: galactose-1,3-arabinose, R₃: arabinose-1,3-arabinose-1,3-arabinose.

Fonte: Stephen e Churms (1995).

O polissacarídeo natural está na forma de sal, o qual é transformado no ácido correspondente, ácido arábico (BOBBIO e BOBBIO, 2001). Em pH acima de 2,2 é negativamente carregada e abaixo de pH (< 2,2) a dissociação dos grupos carboxila é suprimida (FLANAGAN e SINGH, 2006).

As características da goma arábica são: alta solubilidade, baixa viscosidade em altas concentrações, características emulsificantes e boa capacidade de retenção de recheio nos processos de encapsulação. Porém, este material de parede apresenta um elevado custo se comparado a outros materiais como a maltodextrina (SHIGA et al., 2001).

A diversidade química na composição da goma arábica associada à sua alta solubilidade, baixa viscosidade, baixa higroscopicidade, boas propriedades emulsificantes, sabor e aroma suaves, formação de filmes nas interfaces, e ação protetora contra a oxidação de voláteis durante o processamento e estocagem. Assim, pode explicar a ampla utilização desta goma como material de parede na elaboração de cápsulas (AZEREDO, 2005; SCHMITT et al., 2000).

1.2.2.2 Pectina

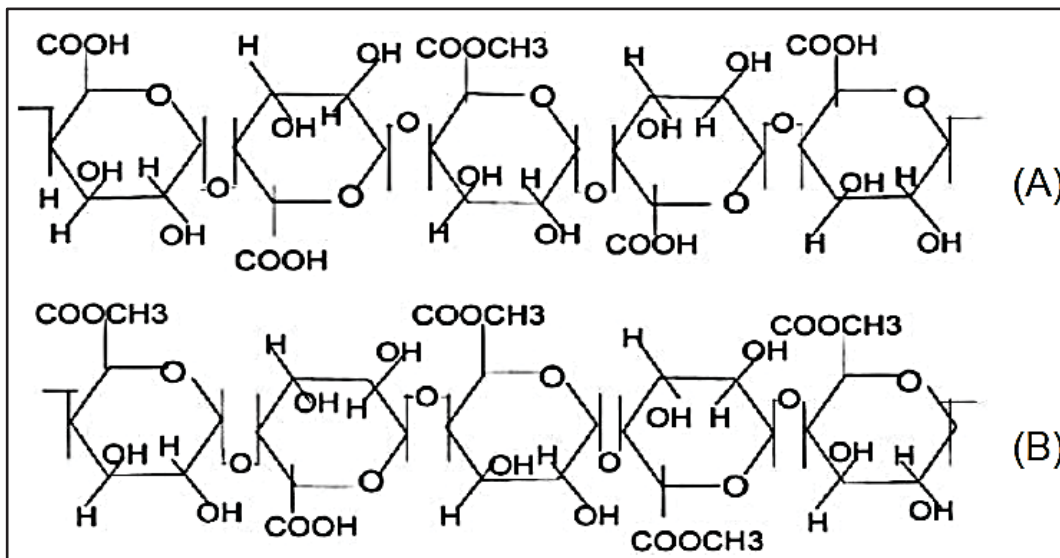
A pectina é um polissacarídeo encontrado na parede celular na maioria das plantas (THAKUR, SINGH e HANDA, 1997; VORAGEN, SCHOL e VISSER, 2003). Este polissacarídeo é extraído comercialmente das cascas da maçã e frutas cítricas provenientes dos subprodutos da indústria de sucos e apresenta grau de esterificação (DE) de 55 a 75% (RODRIGUES, ASQUIERI e ORSI, 2014; LOPES DA SILVA e RAO, 2010). A cadeia linear da pectina é formada por unidades monoméricas de ácido α -(1 \rightarrow 4)-D-galacturônico, parcialmente esterificados com grupos metoxílicos (BOBBIO e BOBBIO, 2001; RIDLEY, O'NEILL e MOHNEN, 2001; VORAGEN, SCHOL e VISSER, 2003). Alguns açúcares neutros como galactose, glicose, ramnose, arabinose e xilose também podem estar presentes na cadeia, sendo que no ponto de ligação da ramnose ocorre, necessariamente a quebra na linearidade da estrutura molecular (RALET et al., 2001; RIDLEY, O'NEILL e MOHNEN, 2001).

O ácido galacturônico presente na molécula da pectina pode ter o grupo funcional carboxílico parcialmente esterificado, ou seja, parte deste ácido sofreu metilesterificação. Portanto, o grau de esterificação (DE) de uma molécula da pectina é definido como a porcentagem de ácidos galacturônicos que foram metilesterificados. As pectinas são subdivididas de acordo com o grau de esterificação ou metoxilação em (BOBBIO; BOBBIO, 2001; SPERBER et al., 2009; VORAGEN; SCHOL; VISSER, 2003):

- ✓ Pectinas de alta esterificação (ATM) ou pectinas HM: pectinas com grau de metoxilação superior a 50%;
- ✓ Pectinas de baixa esterificação (BTM) ou pectinas LM: pectinas com grau de metoxilação inferior a 50%.

As fórmulas estruturais da pectina com baixo teor de metoxilação e da com alto teor de metoxilação podem ser observadas na Figura 1.7.

Figura 1.7 - Estruturas moleculares da pectina com baixo teor de metoxilação (A) e com alto teor de metoxilação (B).



Fonte: Fernandez (2001).

A propriedade mais conhecida das pectinas é a capacidade de formação de gel na presença de íons, açúcares e ácidos. A geleificação ocorre devido à desidratação parcial da molécula de pectina a um grau intermediário entre a solução e a precipitação. As características físicas do gel são consequências da formação de contínuas redes tridimensionais com ligações cruzadas entre as moléculas (THAKUR, SINGH e HANDA, 1997; VORAGEN, SCHOL e VISSER, 2003). Por sua vez, as características químicas que podem influenciar na força do gel são: grau de esterificação, massa molar, composição monossacarídica, acetilação e conteúdo de inúmeras cinzas (PAGÁN et al., 2001)

As pectinas de alto DE formam géis em pH próximo a 3,6 e na presença de co-solutos e açúcares em concentração maior que 65%. O açúcar tem como função estabilizar as “zonas de junção”, promovendo interações hidrofóbicas entre os grupos metilesterificados (WILLATS, KNOX e MIKKELSEN, 2006). Nas pectinas de baixo grau de esterificação, as “zonas de junção” são formadas por ligações de íons cálcio com os grupos carboxílicos livres. Pectinas de baixo grau de esterificação requerem controle da quantidade de íons cálcio para formar géis e podem ser utilizadas como agente geleificante em produtos com baixo teor de açúcares, como geleias e gelatinas light (IGLESIAS e LOZANO, 2004).

As características eletrostáticas e a formação de géis conferem à pectina ótimas propriedades para serem utilizadas como material de parede para a formação

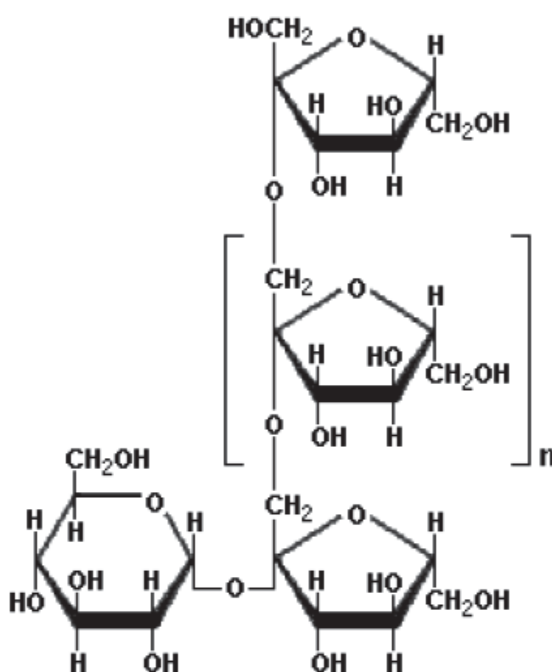
de cápsulas. Muitos estudos têm sido realizados utilizando a pectina combinada com proteínas ou até mesmo com outro polissacarídeo como agente encapsulante (PANYOYAI et al., 2014; RODEA-GONZÁLEZ et al., 2012; SILVA et al., 2012).

A fonte da matéria prima, as metodologias utilizadas no processo de extração, assim como os tratamentos subsequentes realizados na pectina, são fatores essenciais na determinação das propriedades e composição final da pectina (RALET et al., 2001).

1.2.2.3 Inulina e Frutooligossacarídeos (FOS).

A inulina é um carboidrato pertencente ao grupo dos frutanos, composta por uma cadeia principal de unidades de frutose, unidas por ligações β -(2,1)-frutofuranosídicas, com uma unidade de glicose terminal. Sua fórmula pode ser descrita como GF_n, onde G representa a molécula de glicose, F a molécula de frutose e n o número de unidades de frutose (MENSINK et al., 2015; SILVA, 1996). A estrutura química da inulina pode ser observada na Figura 1.8.

Figura 1.8 - Estrutura química da inulina.

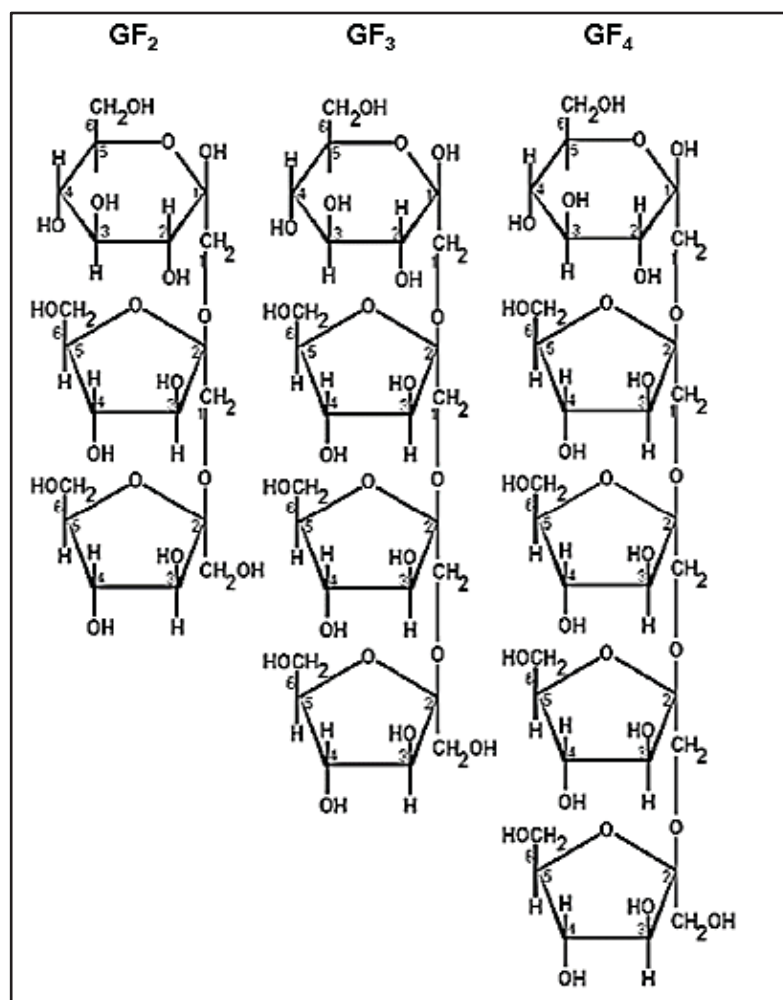


Fonte: Roberfroid, Gibson e Delzenne (1993)

Os fruto-oligossacarídeos (FOS) são definidos como polímeros de D-frutose, que terminam com uma molécula de glicose, de forma que a inulina pode ser

classificada como um fruto-oligossacarídeo (SILVA, 1996). A inulina e os FOS possuem a mesma composição, o que os diferencia é o grau de polimerização (GP) (SILVA, 1996). Moléculas com GP entre 3 e 10 são considerados FOS, enquanto que moléculas entre 10 e 65 são consideradas inulina (KOLIDA e GIBSON, 2007). Os FOS são a combinação de três açúcares, apresentados na Figura 1.9, 1 - cestosose (GF₂), nistose (GF₃) e frutofuranosil nistose (GF₄), sendo as unidades de frutossiltransferase (F) ligadas na posição β (2,1) da sacarose (GF) (IANNITTI e PALMIERI, 2010; GIBSON e ROBERFROID, 1995; YUN, 1996).

Figura 1.9 - Estrutura química da 1-cestose (GF₂), nistose (GF₃), frutofuranosil nistose (GF₄).



GF₂ – trissacarídeo que consiste de 1 molécula de glicose e 2 moléculas de frutose
 GF₃ – tetrassacarídeo que consiste de 1 molécula de glicose e 3 moléculas de frutose
 GF₄ – pentassacarídeo que consiste de 1 molécula de glicose e 4 moléculas de frutose
 Fonte: Passos e Park (2003).

A inulina está distribuída em mais de 30.000 produtos vegetais como carboidrato de reserva (WICHENCHOT et al., 2011), entre os quais estão o girassol

a chicória, a dália (DE OLIVEIRA et al., 2011), a cebola, o alho, o alho-poró, a banana, o aspargo, o trigo e a alcachofra de Jerusalém (BOSSCHER, VAN LOO e FRANCK, 2006; SILVA, 1996; STEVENS, MERIGGI e BOOTEN, 2001). Os FOS podem ser encontrados no mel, no açúcar mascavo e nas raízes tuberosas, como o yacon (CAMPOS et al., 2012; DE OLIVEIRA et al., 2011).

Industrialmente, os FOS podem ser obtidos por dois processos: o primeiro é o preparado pela hidrólise enzimática da inulina, e contendo unidades lineares de frutossil com ou sem uma unidade final de glicose, consistindo de unidades lineares de frutossil com ou sem uma unidade final de glicose. O GP desses FOS varia de 1 a 7 unidades de frutossil (ROBERFROID, GIBSON e DELZENNE, 1993). O segundo processo é preparado pela reação enzimática de transfrutosilação em resíduos de sacarose, e consiste tanto de cadeias lineares como de cadeias ramificadas de oligossacarídeos, com grau de polimerização variando entre 1 e 5 unidades de frutossil (HARTEMINK, VAN LAERE e ROMBOUTS, 1997).

As propriedades tecnológicas da inulina variam de acordo com o grau de polimerização (GP). Moléculas pequenas entre 3 e 6 unidades de frutose são utilizadas como edulcorantes de baixo valor calórico, enquanto moléculas com maior GP podem ser utilizados como substitutos de gordura e agentes de geleificação (MENSINK et al., 2015). Atuam de forma semelhante às fibras dietéticas, contribuindo para melhorar as condições do sistema gastrointestinal. A indústria farmacêutica a utiliza para retardar a absorção de drogas com efeitos adversos sobre o estômago (BARCLAY et al., 2012; MENSINK et al., 2015). Devido a estas propriedades, indústrias de alimentos e farmacêuticas têm encontrado aplicações para a inulina e seus derivados, a exemplo dos FOS na produção de alimentos funcionais, compostos nutricionais e medicamentos (BARCLAY et al., 2012; MORRIS e MORRIS, 2012).

Entre as aplicações da inulina podemos destacar sua utilização como material de parede em processos de encapsulação, devido às suas propriedades funcionais/nutricionais. Por se tratar de uma molécula de polissacarídeos, acredita-se que tenha um comportamento semelhante ao dos amidos modificados, que são bastante utilizados em encapsulação (BEIRÃO-DA-COSTA et al., 2013; FERNANDES, BORGES e BOTREL, 2014).

1.2.2.4 Gelatina

A gelatina é uma proteína derivada da hidrólise parcial do colágeno, principal constituinte de peles de animais, ossos, tendões e tecido conectivo. É composta de L-aminoácidos unidos por ligações peptídicas. A composição destes aminoácidos pode apresentar variações, mas de forma geral apresentam cerca de 27% de glicina, 16% de prolina e 14% de hidroxiprolina; os 43% restantes são compostos por outros aminoácidos (POPPE, 1997).

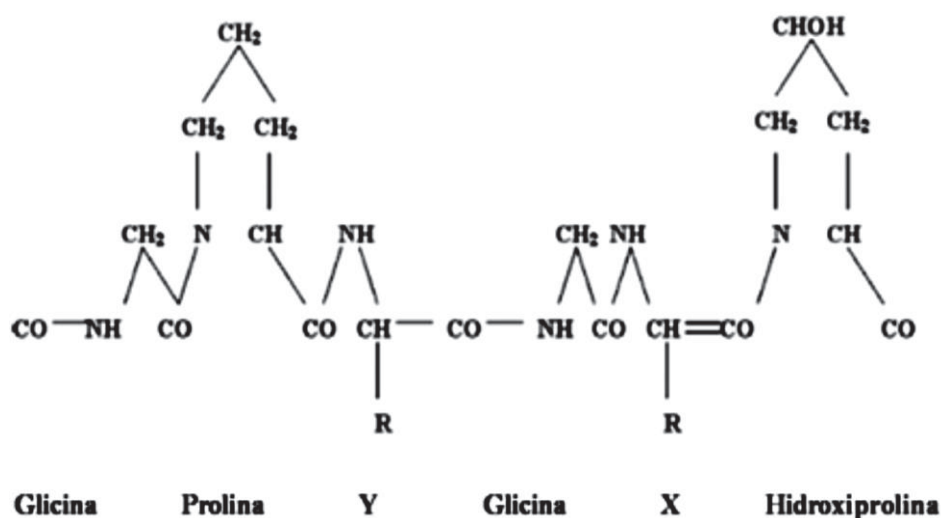
O pré-tratamento na obtenção da gelatina tem como finalidade eliminar gorduras, mucopolissacarídeos e outros compostos orgânicos (POPPE, 1997). Primeiramente, o colágeno é desnaturado a 40 °C e posteriormente é submetido à hidrólise (ácida ou básica) para a quebra das ligações covalentes. Dependendo do tipo de pré-tratamento utilizado para retirar as impurezas e iniciar o processo de hidrólise, a gelatina pode ser classificada em dois grupos (ALVIM e GROSSO, 2010; MATALANIS, JONES e MCCLEMENTS, 2011; THIES, 2007).

- ✓ Tipo A: pré-tratamento realizado por um ácido. Dentre os mais utilizados encontram-se os ácidos clorídrico, sulfuroso e fosfórico, com ponto isoelétrico entre 7,0 e 9,0;
- ✓ Tipo B: pré-tratamento realizado por uma base (óxido de cálcio), com ponto isoelétrico entre 4,6 e 5,2.

A composição da gelatina compreende a maioria dos aminoácidos essenciais (total 18 aminoácidos), exceto a cisteína e o triptofano. A glicina, a prolina, a alanina e hidroxiprolina estão em maior quantidade na gelatina, aproximadamente 65% do total de aminoácidos. A glicina é predominante no resíduo terminal N da gelatina tipo A, já a alanina é predominante na gelatina tipo B (DJAGNY, WANG e XU, 2001). A estrutura da gelatina contém sequências triplas repetidas de glicina X-Y, onde X e Y são os aminoácidos prolina e hidroxiprolina, respectivamente (Figura 1.10), que conferem uma estrutura secundária em α -hélice, mantidas principalmente por ligações intermoleculares do tipo pontes de hidrogênio. A conformação aberta da gelatina é atribuída à presença da prolina e da hidroxiprolina, formando uma estrutura tripla hélice distendida, que apresenta muitas das cadeias laterais de aminoácidos na parte

externa da molécula facilitando assim a interação entre as moléculas (BUREY et al., 2008).

Figura 1.10 - Estrutura química da gelatina, responsável pela conformação em tripla hélice.



Fonte: Burey et al. (2008).

As propriedades da gelatina dependem do método de produção (ácido ou básico), sua origem, o tipo e número de aminoácidos e a sua massa molar (COESTER et al., 2000). A gelatina é utilizada pelas indústrias farmacêuticas, alimentícias e de cosméticos. Na indústria de alimentos, é utilizada como um ingrediente para aumentar a estabilidade dos produtos, sendo então imprescindível que a mesma apresente boas propriedades reológicas. As propriedades de força de gel, viscosidade e ponto de fusão são influenciadas pela concentração da solução de gelatina, tempo e temperatura de maturação do gel, pH e teor de sal (CHOI e REGENSTEIN, 2000; XIAO et al., 2014).

A gelatina tem propriedade típica de polieletrólito anfótero, pois apresenta carga elétrica negativa, carregada acima de seu ponto isoelétrico, ou positiva, carregada abaixo de seu ponto isoelétrico. Por esta razão, a gelatina apresenta alta capacidade de formar filmes polieletrólitos ou complexos com outros biopolímeros. É considerada como bom material de parede para a produção de microcápsulas por diversas técnicas, incluindo a microencapsulação por coacervação complexa (COMUNIAN e FAVARO-TRINDADE, 2016; POPPE, 1997; SHAHIDI e XIAO, 1993).

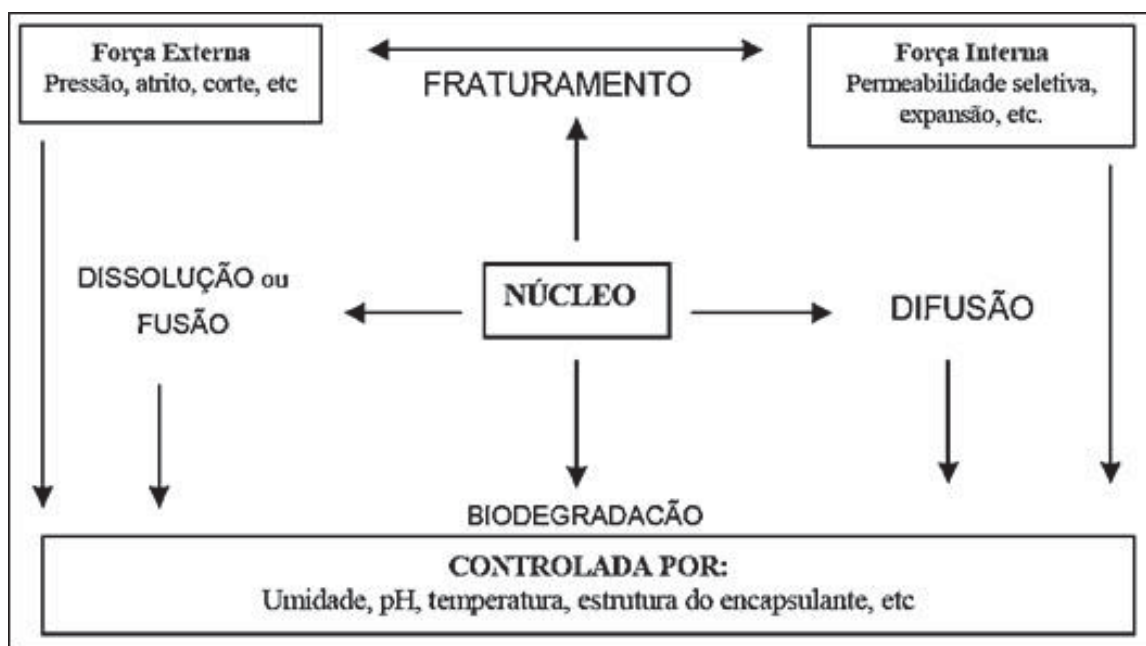
1.3 LIBERAÇÃO CONTROLADA

A liberação controlada pode ser definida como um método onde um ou mais ingredientes ativos são disponibilizados em períodos de tempos específicos (GOUIN, 2004). Inicialmente foi utilizada pela indústria farmacêutica e logo se expandiu para outras áreas, como agroquímica, fertilizantes, fármacos de uso veterinário e alimentícia (POTHAKAMURY e BARBOSA-CÁNOVAS, 1995).

A interação entre o material de parede e o núcleo é considerado um dos principais fatores que afetam as taxas de liberação do material ativo, portanto o núcleo das microcápsulas pode ser modificado de acordo com o gatilho de liberação desejado. Por exemplo, quando se deseja utilizar a temperatura para liberação do agente normalmente são utilizadas microcápsulas de matriz lipídica, umidade (matriz hidrofílica); pH (cobertura entérica); enzimas (cobertura entérica, matriz lipídica, amido ou proteína); e estresse, mastigação, fratura física, trituração (cobertura entérica, matriz lipídica, amido ou proteína) (GOUIN, 2004; LAKKIS, 2007).

O controle da taxa de liberação do material ativo depende de alguns fatores como o coeficiente de difusão, a espessura de parede da microcápsula e a sua porosidade, a variação na concentração de saturação do material de recheio e a sua distribuição na partícula. De modo geral, a liberação do núcleo depende do tipo de geometria da partícula e do material de parede utilizado para formar a microcápsula. Os mecanismos de liberação do material ativo microencapsulado podem ocorrer devido à ação de solventes, por difusão, pela degradação ou até mesmo fratura da partícula. Pode ocorrer ainda, a liberação através da ruptura mecânica ou como resultado de variação da temperatura, pH e solubilidade do meio (GOUIN, 2004; JACKSON e LEE, 1991; REINECCIUS, 1995; SHAHIDI e HAN, 1993). A Figura 1.11 apresenta alguns dos mecanismos de liberação controlada de ingredientes encapsulados proposta para microcápsulas.

Figura 1.11 - Mecanismos de liberação controlada de ingredientes encapsulados.



Fonte: Shahidi e Han (1995).

A liberação por fraturamento pode ocorrer pela ação de forças externas, onde a parede do agente encapsulante é fraturada ou quebrada devido à pressão mecânica, cisalhamento ou ondas do tipo ultrassom. A parede do agente encapsulante pode também ser destruída por forças internas pela dissolução da microcápsula em um solvente apropriado ou por aquecimento e posterior fusão da parede (DEYPERE et al., 2003; SHAHIDI e HAN, 1993).

A liberação controlada por meio da variação de pH, pode resultar em alterações na solubilidade em água do material de parede (REINECCIUS, 1995). Outra forma de liberação é a ativada por temperatura, em que o núcleo é liberado como resultado de uma mudança de temperatura, afetando o estado físico e a taxa de liberação. Existem dois conceitos distintos: a liberação sensível à temperatura, reservada para materiais que se colapsam ou expandem quando uma temperatura crítica é atingida, e a liberação ativada por fusão, que envolve a fusão do material de parede (exemplo: um lipídio modificado ou uma cera) por aumento de temperatura (POTHAKAMURY e BARBOSA-CÁNOVAS, 1995). A liberação por solvente é baseada na solubilização do material de parede seguida da liberação do núcleo; o material da parede pode se dissolver totalmente, liberando rapidamente o núcleo, ou começar a se expandir e favorecer a liberação do núcleo.

A liberação controlada por difusão é um dos mecanismos mais importantes no processo de liberação. O mecanismo de difusão ocorre principalmente quando a parede da microcápsula está intacta. Sendo assim, a taxa de liberação é controlada pelas propriedades químicas do núcleo e do material da parede, assim como algumas propriedades físicas da parede, como a estrutura da matriz e as dimensões dos poros (AZEREDO, 2005; CONSTANT e STRINGHETA, 2002; POTHAKAMURY e BARBOSA-CÁNOVAS, 1995; SHAHIDI; HAN, 1993). Na prática, uma combinação de mais de um destes mecanismos de liberação podem ser utilizados para controlar a liberação (DESAI e PARK, 2005). Além disso, outras variáveis influenciam a liberação, tais como a volatilidade do núcleo, a proporção entre núcleo e o material de parede, o tamanho das partículas, a morfologia, o grau de viscosidade do polímero encapsulante e a solubilidade (AZEREDO, 2005).

A microencapsulação de ingredientes alimentícios objetivando a liberação controlada é uma alternativa promissora para resolver muitos problemas enfrentados pela indústria de alimentos (DESAI e PARK, 2005), uma vez que amplia o âmbito de aplicação de ingredientes e garante a dosagem desejada (GOUIN, 2004). O controle da taxa de liberação é muito desejado no desenvolvimento de microcápsulas e as variáveis que permitem esse controle são a espessura e a porosidade da parede da microcápsula, a variação na proporção do núcleo em relação ao material de parede assim como a sua distribuição no interior da partícula.

A liberação do composto ativo do interior da microcápsula para o meio ocorre devido à destruição da integridade da parede da microcápsula. A velocidade e modo de destruição dependerão do tipo de liberação desejada. Por exemplo, quando a liberação do material ativo é desejado somente após a ingestão do alimento contendo a microcápsula, a liberação deve ocorrer somente no sistema digestivo, ou seja, lentamente e após atingido um determinado pH (THIES, 1995).

Algumas pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de avaliar a liberação do composto ativo frente a diferentes condições, conforme os estudos apresentados na Tabela 1.4.

Tabela 1.4 – Liberação de compostos bioativos em diferentes condições.

Método de microencapsulação	Condições experimentais variadas	Composto ativo avaliado	Avaliação da liberação	Referências
<i>Spray drying</i>	Diferentes materiais de parede	óleo essencial coentro	Liberação avaliada em soluções tampão com valores de pH de 2,5 e 6,5 e etanol. As microcápsulas de quitosana apresentaram maior taxa de liberação em pH 2,5 enquanto que as microcápsulas de alginato exibiram a maior taxa de liberação em pH 6,5.	Dima et al. (2016)
	Diferentes proporções e materiais de parede e temperatura do ar de entrada	Ácido gálico	Liberação avaliada em água. O padrão de liberação do ácido gálico foi rápido para todos os sistemas avaliados (<9 h).	Robert et al., 2012)
	Diferentes combinações de materiais de parede	Ácido rosmarínico	Liberação avaliada sob condições de uma formulação cosmética. As partículas de quitosana modificada exibiam uma liberação mais lenta em óleo do que em água e as partículas de quitosana mostraram uma liberação mais rápida em ambos os meios.	Casanova, Estevinho e Santos (2016)
<i>Freeze-drying</i>	Diferentes combinações de materiais de parede	Carotenoides e compostos fenólicos do suco de cereja roxa	Liberação avaliada em água e em fluidos gástrico e intestinais simulados.	Rutz et al. (2013)
	Diferentes combinações de materiais de parede	Carotenoides do óleo de palma	Os compostos fenólicos apresentaram maior taxa de liberação independente do material da parede e fluidos em análise. Liberação avaliada em água e em fluidos gástrico e intestinal. Uma porcentagem maior de carotenoides foi liberada em fluido que simula as condições gastrointestinais.	Rutz et al. (2017a)
Coacervação complexa	Diferentes combinações de materiais de parede (gelatina e goma arábica)	Ácido ascórbico	Liberação avaliada em diferentes valores de pH (1, 1, 2, 2, 5, 4, 7, 4, 9, 6 e 12). A liberação do ácido ascórbico foi mais lenta em meios que apresentaram valores de pH 5, 4, 7, 4 e 9, 6.	Rodrigues da Cruz et al. (2019)

CAPÍTULO 2

Avaliação das características físico-químicas, estabilidade térmica e perfil de liberação de microcápsulas de ácido ascórbico obtidas por coacervação complexa

Parte do conteúdo desse capítulo foi publicado na revista Food Hydrocolloids –
(Qualis A1 – Ciência de Alimentos)
(Anexo I)

Avaliação das características físico-químicas, estabilidade térmica e perfil de liberação de microcápsulas de ácido ascórbico obtidas por coacervação complexa

RESUMO

O objetivo deste capítulo foi determinar as características físico-químicas, estabilidade térmica e perfil de liberação de microcápsulas de ácido ascórbico (AA) obtidas por coacervação complexa. Os materiais de parede utilizados foram a gelatina e a goma arábica em concentrações de 2,5, 5,0 e 7,5 g/100 mL e proporção mássica de 1:1. As microcápsulas de AA foram avaliadas quanto à morfologia (microscopia ótica e microscopia eletrônica de varredura), atividade de água, higroscopicidade, solubilidade em água, eficiência de encapsulação (EE), comportamento térmico, estabilidade durante 60 dias de armazenamento e velocidade de liberação do material ativo em meio com diferentes valores de pH (1,1, 2,2, 5,4, 7,4, 9,6 e 12). A EE variou de 27 a 94%. As microcápsulas de AA apresentaram diâmetro médio abaixo de 12 μ m, baixa solubilidade em água e baixa higroscopicidade. A liberação de AA foi mais lenta em meio com pH 7,4, com liberação de 96% do AA microencapsulado em 300 min de análise. Diferentes modelos matemáticos foram ajustados com sucesso à cinética de liberação: $R^2 > 0,94$, desvios absolutos $< 16\%$ e desvios RMS $< 0,09$. Foi proposto um modelo matemático para uma versão de dois passos, resultando em correlações altas com os dados experimentais observados: $R^2 > 0,99$, desvios absolutos $< 3,5\%$ e desvios RMS em torno de 0,02. O AA teve sua estabilidade térmica significativamente melhorada pelo processo de microencapsulação. Esta característica juntamente com a baixa higroscopicidade e a baixa solubilidade em água ampliam sua aplicação na indústria de alimentos.

Palavras-chave: microencapsulação, vitamina C, eficiência de encapsulação, emulsão, liofilização.

1 INTRODUÇÃO

O ácido ascórbico (AA) tem sido utilizado como ingrediente ou aditivo em alimentos devido às suas propriedades antioxidantes e redutoras, bem como sua

função nutricional como fonte de vitamina C. Na indústria de alimentos, o AA é amplamente aplicado na cura da carne e na inibição do escurecimento enzimático de frutas e vegetais. A degradação do AA é influenciada por fatores como a presença de calor, luz, valores elevados de pH, alta concentração de oxigênio, alta atividade de água e reações catalisadas por íons de metais de transição, como Cu^{2+} e Fe^{3+} (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010). Em soluções aquosas e em alimentos, sua estabilidade está diretamente relacionada às condições de armazenamento e à composição da solução ou matriz em que este composto foi adicionado. Uma variedade de métodos tem sido proposta para aumentar a estabilidade do AA, dentre eles a microencapsulação. A microencapsulação é definida como um processo no qual pequenas partículas ou gotículas (o material ativo) são cercadas por um revestimento com o objetivo principal de protegê-los das condições adversas do meio, como luz, umidade, oxigênio e interação com outros compostos, além de fornecer a liberação controlada do composto ativo (ABBAS et al., 2012; SHAHIDI e HAN, 1993; GHARSALLAOUI et al., 2007; GIBBS et al., 1999).

Vários métodos de microencapsulação podem ser empregados para melhorar a estabilidade de AA, como *spray drying* (ALVIM et al., 2016; DESAI e PARK, 2005; TRINDADE e GROSSO, 2000), *spray congealing* (MATOS-JR et al., 2015), técnica microfluídica (COMUNIAN et al., 2014), evaporação de solvente (UDDIN, HAWLADER e ZHU, 2001), *spray chilling* (SARTORI et al., 2015) e coacervação complexa (COMUNIAN et al., 2013).

A coacervação é a separação de um ou mais hidrocolóides de uma solução inicial seguida pela deposição da fase coacervada em torno de um ingrediente ativo suspenso ou emulsionado no meio (DOUBLIER et al., 2000; NORI et al., 2011). A coacervação complexa é um método de encapsulação alternativo para compostos sensíveis e instáveis que produz uma verdadeira microcápsula, protegendo completamente o material ativo dentro do material da parede. As microcápsulas produzidas por coacervação complexa são insolúveis em água, resistentes a altas temperaturas e possuem características favoráveis para liberação controlada (DONG et al., 2011).

Alguns estudos têm sido realizados com o objetivo de superar os problemas relacionados à estabilidade e facilitar a aplicação do AA em matrizes alimentícias. Alvim et al. (2016) produziram microcápsulas AA por *spray drying* e por *spray chilling*. As características das micropartículas foram comparadas quando utilizadas na

produção de biscoitos. A goma arábica foi utilizada como material de parede para o *spray drying* e o ácido esteárico e gorduras vegetais hidrogenadas para o *spray-chilling*. Uddin, Hawlader e Zhu (2001) encapsularam AA usando diferentes técnicas, como dispersão de fusão, dispersão de solvente e *spray drying*. As microcápsulas obtidas por *spray drying* utilizando o amido e a β -ciclodextrina como materiais de parede apresentaram uma degradação mais lenta do ácido ascórbico durante o armazenamento a 38 °C e umidade relativa de 84,0%.

Matos-Jr et al. (2015) utilizaram o *spray congealing* com óleo de palma hidrogenado e monoestearato de glicerol como materiais de parede para encapsular AA. A EE obtida variou de 74 a 84% com um rendimento superior a 81%. Os autores concluíram que o tipo de transportador e a concentração de AA não influenciaram significativamente na estabilidade do AA. Pierucci et al. (2006) encapsularam AA por *spray-drying* usando proteína isolada de ervilha como material de parede. As microcápsulas obtidas apresentaram um rendimento em torno de 84% para todos os materiais estudados, diâmetros de partícula menores que 8 μ m e uma liberação do AA encapsulado mais lenta do que na forma não encapsulada. Comunian et al. (2013) empregaram a coacervação complexa na microencapsulação do AA, utilizando como materiais de parede a goma arábica e a gelatina. As microcápsulas obtidas apresentaram formato esférico e com uma eficiência de encapsulação de aproximadamente 98%.

Embora todos esses estudos tenham demonstrado que a microencapsulação aumenta a estabilidade do AA quando comparado ao AA não encapsulado, é necessário estudar o comportamento das microcápsulas em condições que afetam a estabilidade do material ativo. O objetivo deste estudo foi avaliar as características físico-químicas, a estabilidade térmica e o perfil de liberação das microcápsulas de AA obtidas por coacervação complexa.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAIS

Os experimentos deste trabalho foram realizados nos Laboratórios do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná, no campus Centro Politécnico, em Curitiba, Paraná. O material ativo foi o

ácido ascórbico (AA) com 99,9 % de pureza (Biotec, Pinhais, Brasil). Como materiais de parede foram utilizados a gelatina bovina tipo B de grau alimentício (Gelita South América, Mococa, Brasil) e a goma arábica (Biotec, Pinhais, Brasil). Para a produção da emulsão simples foi utilizado o óleo de milho (Cargil, Mairinque, Brasil) e o surfactante poliricinoleato de poliglicerol (PGPR 90) (SGS Agricultura e Industria Ltda, Ponta Grossa, Brasil). Os demais reagentes foram de grau analítico.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Determinação do pH de coacervação

Para a seleção do pH de coacervação foram utilizados 20 mL da solução de gelatina e 20 mL da solução de goma arábica, na proporção de 1:1. A concentração dos polímeros foi fixada em 2,5 g/100 mL para todos os testes. A solução do par polimérico permaneceu sob agitação com um eletrodo de pH inserido na solução à temperatura de 45 ± 2 °C. O pH foi ajustado com soluções de NaOH 0,1 mol.L⁻¹ e HCl 0,1 mol.L⁻¹ até o valor desejado (3,5, 4,0, 4,2, 4,3, 4,4, 4,5 e 5,0). Após a seleção do pH desejado foi realizada a medida de turbidez das soluções aquosas dos polímeros de parede em um turbídimetro (Del Lab modelo DLT-WV) previamente calibrado com as soluções padrão. Os resultados obtidos foram expressos em unidades de turbidez nefelométrica (NTU).

2.2.2 Determinação da concentração de emulsificante

O emulsificante lipofílico PGPR 90 foi escolhido com base em trabalhos realizados por Comunian et al. (2013), Rocha-Selmi et al. (2013) e Santos et al. (2015) no preparo de emulsões em que foram encapsuladas substâncias hidrofílicas. Para determinar a concentração do emulsificante foi preparada uma emulsão simples do tipo (A/O) utilizando uma solução aquosa de ácido ascórbico com concentração de 30% (m/v), óleo de milho em proporções de 1:1 e 1:2 (m/v) (fase aquosa/fase oleosa) e o emulsificante lipofílico PGPR 90 sob concentrações de 0,3, 0,5 e 0,8% (m/m) em relação à massa total da emulsão. A mistura foi emulsionada em Ultra-turrax (T 25 digital, Ika, Germany) com velocidade de 18000 rpm durante 3 minutos. As

concentrações do emulsificante lipofílico e a proporção utilizada nas emulsões estão apresentados na Tabela 2.1.

Para selecionar a melhor concentração do emulsificante foi realizado o teste de estabilidade, que consiste em adicionar as emulsões em uma proveta a temperatura ambiente e observá-las visualmente por 60 min. As emulsões que apresentaram estabilidade durante os 60 minutos permaneceram em repouso por mais 24 h.

Tabela 2.1 – Concentração do emulsificante lipofílico e proporção mássica entre fases aquosa e oleosa das emulsões.

Concentração do emulsificante PGPR 90	Relação fase aquosa:fase oleosa (m/m)
0,3 %*	1:1
0,5 %	1:1
0,8 %	1:1
0,3 %	1:2
0,5 %	1:2
0,8 %	1:2

*Porcentagem de emulsificante em relação à massa total da emulsão (m/m).

2.2.3 Determinação da velocidade e do tempo de homogeneização da emulsão simples

Após a escolha da melhor concentração de emulsificante e proporção de óleo foi realizado um planejamento experimental completo 3^2 , onde o 2 está relacionado com o número de variáveis estudadas e o 3 com o número de níveis analisados. A velocidade e o tempo de homogeneização da emulsão simples são as variáveis e a eficiência de encapsulação é a resposta (RODRIGUES e IEMMA, 2009). A Tabela 2.2 apresenta os níveis e as variáveis utilizadas no planejamento experimental.

Tabela 2.2 – Planejamento experimental.

Variável	Nível		
	-1	0	+1
Velocidade de Homogeneização (rpm)	18000	20000	22000
Tempo (min)	2	3	4

A Tabela 2.3 apresenta a combinação dos níveis e variáveis utilizados no planejamento fatorial completo 3^2 , totalizando 9 ensaios, avaliados em triplicata.

Tabela 2.3 - Velocidades e tempos utilizados no planejamento fatorial completo 3².

Níveis		Velocidade (rpm)	Tempo (min)
0	+1	20.000	4
+1	0	22.000	3
-1	-1	18.000	2
-1	0	18.000	3
+1	+1	22.000	4
0	-1	20.000	2
+1	-1	22.000	2
-1	+1	18.000	4
0	0	20.000	3

Para o preparo da emulsão simples (A/O) foi utilizada uma solução de AA com concentração de 30% (m/v), óleo de milho (m/v) na proporção de 1:1 (m/v) (fase aquosa/fase oleosa) e o emulsificante lipofílico PGPR 90 com concentração de 0,8% (m/m) em relação à massa total da emulsão. A mistura foi emulsionada em Ultra-turrax (T 25 digital, Ika, Germany) conforme o planejamento experimental apresentado na Tabela 2.1. Esta emulsão foi considerada como núcleo.

A emulsão simples (núcleo) foi adicionada lentamente a 100 mL de solução aquosa de gelatina com concentração de 2,5 g/100 mL a uma temperatura de 45 ± 2 °C para a formação da emulsão dupla (A/O/A). A emulsificação foi realizada em homogeneizador Ultra-turrax por 3 min a 14.000 rpm. A solução de goma arábica com concentração de 2,5 g/100 mL foi adicionada a essas emulsões sob agitação magnética a 45 ± 2 °C e homogeneizada durante 5 min. Em seguida, foi acrescentada água destilada (o dobro do volume do sistema) a 45 ± 2 °C.

Para promover a coacervação complexa foi feito o ajuste do pH da emulsão para 4,4 mediante a adição de NaOH 0,1 mol.L⁻¹, seguida de resfriamento lento e gradual do sistema até aproximadamente 10 ± 2 °C em banho de gelo. O material coacervado foi estocado durante 24 h a 7 ± 2 °C para separação das fases. Após as 24 h, a água foi descartada e as amostras foram centrifugadas a 1450 g durante 15 min. Os coacervados foram transferidos para frascos recobertos com papel alumínio, congelados (-18 °C) durante 24 h e desidratados por sublimação em liofilizador (Liobras, Liotop modelo L101) a -52 °C por 48 h. A proporção entre gelatina, goma arábica e a solução de ácido ascórbico foi de 1:1:1 (m/m/m) nos ensaios de tempo e velocidade de homogeneização.

2.2.4 Preparação das microcápsulas do ácido ascórbico por coacervação complexa

Após a obtenção dos resultados ótimos do planejamento experimental em termos de tempo e velocidade de homogeneização que resultaram em maior eficiência de encapsulação, foi realizado um planejamento fatorial completo 3^2 para se obter a melhor concentração dos materiais de parede (gelatina e goma arábica), assim como a proporção entre o núcleo e o material de parede, conforme descrito na Tabela 2.4

Tabela 2.4 – Planejamento experimental.

Variável	Nível		
	-1	0	+1
Concentração do material de parede* (g/100 mL)	2,5	5,0	7,5
Proporção do núcleo (%)**	25	50	75

*A proporção de gelatina:goma arábica (m/v) foi fixada em 1:1.

**Porcentagem de emulsão simples (núcleo) em relação à concentração total dos polímeros (m/m).

A Tabela 2.5 apresenta a combinação dos níveis e variáveis utilizados no planejamento fatorial completo 3^2 , totalizando 9 ensaios, avaliados em triplicata.

Tabela 2.5 - Variáveis e níveis utilizados no planejamento experimental completo 3^2 .

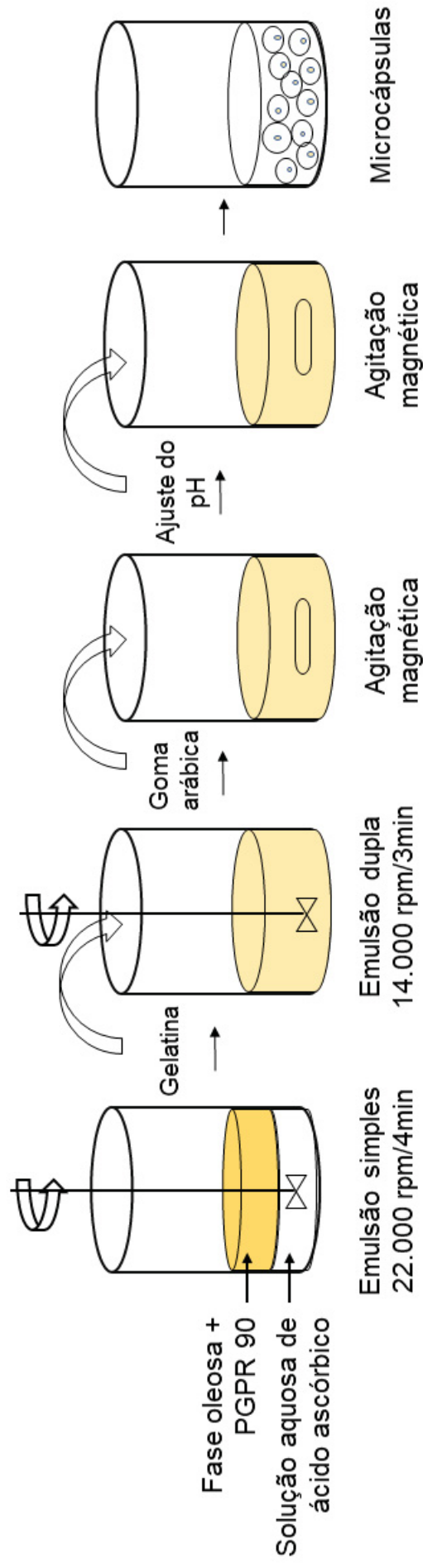
Níveis		Concentração material de parede (g/100 mL)*	Proporção do núcleo (%)**
0	+1	5,0	75
+1	0	7,5	50
-1	-1	2,5	25
-1	0	2,5	50
+1	+1	7,5	75
0	-1	5,0	25
+1	-1	7,5	25
-1	+1	2,5	75
0	0	5,0	50

*A proporção de gelatina:goma arábica (m/v) foi fixada em 1:1.

**Porcentagem de emulsão simples (núcleo) em relação à concentração total dos polímeros (m/m).

A produção das microcápsulas seguiu a metodologia descrita por Comunian et al. (2013), com algumas modificações, conforme esquematizado na Figura 2.1.

Figura 2.1 - Produção das microcápsulas de ácido ascórbico por coacervação complexa.



Fonte: Rodrigues da Cruz et al. (2019).

Para a preparação das microcápsulas primeiramente foram preparadas separadamente 100 mL de uma solução de gelatina e 100 mL de uma solução de goma arábica com concentrações de 2,5, 5,0 e 7,5 g/100 mL sob aquecimento a 45 ± 2 °C, as quais permaneceram sob agitação magnética até completa dissolução. Em seguida, foi preparada uma emulsão simples (A/O) utilizando uma solução aquosa de AA com concentração de 30% (m/v), óleo de milho (m/v) em proporções de 1:1 (m/v) (fase aquosa/fase oleosa) e o emulsificante lipofílico PGPR 90 com concentração de 0,8% (m/m) em relação à massa total da emulsão. A mistura foi emulsionada em Ultra-turrax com velocidade de 22000 rpm durante 4 min. Esta emulsão foi considerada como núcleo e utilizada para os cálculos das proporções do núcleo conforme a Tabela 2.2.

A emulsão simples (núcleo) foi adicionada à 100 mL de solução de gelatina a uma temperatura de 45 ± 2 °C para a formação da emulsão dupla (A/O/A), e a solução resultante foi homogeneizada em Ultra-turrax por 3 min a 14.000 rpm. A solução de goma arábica foi adicionada a essas emulsões sob agitação magnética a 45 ± 2 °C por 5 min e em seguida foi adicionada água destilada (o dobro do volume do sistema) a 45 ± 2 °C. Para promover a coacervação complexa foi realizado o ajuste do pH da emulsão para 4,4 mediante a adição de NaOH 0,1 mol.L⁻¹, seguida de resfriamento lento e gradual do sistema até aproximadamente 10 ± 2 °C em banho de gelo.

O material coacervado foi estocado durante 24 h a 7 °C para separação de fases. Após este período, o sobrenadante foi descartado e as amostras foram centrifugadas (Excelsa II, Fanem, Brasil) a 1450 g durante 15 min, armazenadas em frascos recobertos com papel alumínio, congeladas em freezer (-18 °C) por 24 h e desidratadas por sublimação em liofilizador (Liobras, Liotop modelo L101) a uma temperatura de -52 °C durante 48 h. Após o processo de liofilização, as amostras foram trituradas e acondicionadas em frascos de vidro revestidos com papel alumínio e armazenadas em um dessecador a temperatura ambiente.

2.2.5 Caracterização das microcápsulas

2.2.5.1 Eficiência de encapsulação (EE)

A eficiência de encapsulação foi calculada subtraindo-se a quantidade de ácido ascórbico superficial (AA_{superficial}) da quantidade total de ácido ascórbico (AA_{total})

determinada na amostra, ambos em base úmida. A eficiência de encapsulação foi calculada com a Equação 1.

$$EE (\%) = \frac{AA_{total} - AA_{superficial}}{AA_{total}} \times 100 \quad (1)$$

O teor de AA foi determinado utilizando o método AOAC 967.21 (2010), que se refere à titulação com 2, 6 – diclorofenol indofenol, com as modificações descritas por Benassi e Antunes (1988), os quais substituíram a solução de extração padrão (solução de ácido metafosfórico) por solução de ácido oxálico. Uma solução de ácido L-ascórbico foi utilizada como padrão.

✓ Determinação da quantidade de ácido ascórbico total

A determinação da quantidade de ácido ascórbico total microencapsulado foi determinado com base na metodologia descrita por Alvim et al. (2016). Para o cálculo do ácido ascórbico total foram utilizados 100 mg das partículas liofilizadas, as quais foram fundidas em solução de ácido oxálico 0,03% sob aquecimento à temperatura de 40 ± 2 °C por 5 min. A solução resultante foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL. Após a preparação das amostras o teor de AA presente na solução foi determinado utilizando o método AOAC 967.21 (2010), modificado por Benassi e Antunes (1988).

✓ Determinação da quantidade de ácido ascórbico superficial (AAs)

A determinação da quantidade de ácido ascórbico superficial das microcápsulas foi realizada conforme a metodologia usada por Ribeiro, Arellano e Grosso (2012), com algumas adaptações. Cem miligramas das microcápsulas liofilizadas e 10 mL de solução do agente surfactante Tween 80 (0,1%) foram adicionados em erlenmeyers de 125 mL e submetidos a agitação a 100 rpm em incubadora com agitação orbital por 5 min. A seguir, a suspensão foi filtrada em papel de filtro e a quantidade de AA presente no filtrado foi determinada de acordo com o método AOAC 967.21 (2010), modificado por Benassi e Antunes (1988).

2.2.5.2 Diâmetro médio

Para a determinação do diâmetro médio das microcápsulas liofilizadas foi utilizado o microscópio óptico invertido Axio Vision LE-Observer D1 (Carl Zeiss® Group, Aalen, Jena, Alemanha) acoplado a uma câmera Axio cam MR3 e conectado a um computador. As imagens obtidas pelo *software* Axio Vision SE64 (Carl Zeiss® Microscopy, Tornwood, New York, Estados Unidos) foram utilizadas para calcular o diâmetro médio da partícula com o auxílio de software livre ImageJ. Determinou-se o diâmetro de 150 micropartículas de cada formulação diferente.

2.2.5.3 Atividade de água (A_w) e umidade

A A_w das microcápsulas liofilizadas foi avaliada por leitura direta com um higrômetro (Aqualab, Pullman, Estados Unidos). O teor de umidade (expresso em base úmida) foi determinado por análise gravimétrica em estufa a 105 ± 2 °C até massa constante (AOAC, 2010).

2.2.5.4 Solubilidade e higroscopicidade

A solubilidade das microcápsulas liofilizadas foi determinada seguindo o procedimento descrito por Cano-Chauca et al. (2005), onde 1 g de amostra foi adicionado a 100 mL de água destilada a 40 ± 2 °C e agitado por 5 min em agitador magnético. A solução foi filtrada com papel de filtro e uma alíquota de 20 mL do filtrado foi transferida para uma placa de Petri previamente tarada, a qual foi em seguida aquecida em estufa a 105 ± 2 °C por 5 h. A porcentagem solubilizada foi calculada por diferença de massa.

A higroscopicidade das microcápsulas liofilizadas foi realizada conforme a metodologia descrita por Cai e Corke (2000). Cerca de 0,2 g das microcápsulas foram distribuídos em placas de Petri e colocados em um dessecador contendo uma solução saturada de CaCl_2 . Estas soluções saturadas correspondem a uma umidade relativa de 75% a 25 ± 2 °C. Após 1 semana, as amostras foram pesadas e a higroscopicidade foi expressa como g de água absorvida/100 g de amostra.

2.2.5.5 Morfologia das microcápsulas

A morfologia das microcápsulas foi avaliada por um microscópio óptico invertido Axio Vision LE-Observer D1 (Carl Zeiss® Group, Aalen, Jena, Alemanha) acoplado a uma câmera Axio cam MR3 e conectado a um computador. Também foi utilizado um microscópio eletrônico de varredura (MEV) (Vega3 LMU, Tescan Orsay Holding, Brno, República Tcheca), operando no modo elétron secundário com uma tensão de aceleração de 15 kV, no Centro de Microscopia Eletrônica (UFPR). O microscópio possui uma resolução de 3 nm e pressão controlada entre 3 e 500 Pa. Para as observações no MEV, as microcápsulas liofilizadas foram fixadas em fitas adesivas metálicas aderidas em “*stubs*” também metálicos. Os “*stubs*” foram cobertos por uma fina camada de ouro em evaporador (Balzer SCD50 - Lichtenstein, Áustria) por 180 s sob uma corrente de 40 mA.

2.2.6 Análise de cor

A análise de cor das microcápsulas liofilizadas foi determinada em um colorímetro de reflectância MiniScan XE Plus (Hunter Associates Laboratory Inc., Naperville, IL, E.U.A). Para a realização da análise, o colorímetro foi calibrado com duas placas padrões, preta e branca. As microcápsulas foram armazenadas em frascos de vidro recobertos com papel alumínio, os quais permaneceram em dessecador na presença de oxigênio a uma temperatura de 20 ± 2 °C por 90 dias. As análises foram realizadas em triplicata nos tempos 0, 30, 60 e 90 dias após o processo de microencapsulação.

A análise foi realizada pelo emprego do sistema CIELab (Commission International de L'Eclairage), no qual valores de L^* , a^* e b^* são medidos a fim de descrever um espaço de cor tridimensional. Nesta escala colorimétrica, L^* representa a luminosidade em uma escala de 0 a 100, onde 0 indica uma superfície completamente opaca/preta e 100 indica um material completamente transparente ou branco; os valores de a^* indicam variação do vermelho ao verde ($+a$ = vermelho e $-a$ = verde), e os valores de b^* representam variação de cor do azul ao amarelo ($+b$ = amarelo, $-b$ = azul).

2.2.7 Estabilidade das microcápsulas

O material encapsulado foi armazenado em frascos de vidro cobertos com papel alumínio, os quais permaneceram em dessecador na presença de oxigênio a uma temperatura de 20 ± 2 °C por 60 dias. Foram retiradas amostras em triplicata nos tempos 0, 15, 30, 45 e 60 dias após o processo de microencapsulação. O AA puro foi submetido às mesmas condições de armazenamento e usado como amostra controle. A determinação de AA nas amostras foi realizada de acordo com o método da AOAC 967.21 (2010), modificado por Benassi e Antunes (1988).

2.2.8 Análise térmica

As análises termogravimétricas foram realizadas em um equipamento TGA (PerkinElmer, modelo 4000, EUA) sob uma atmosfera de nitrogênio, com fluxo de 50 mL.min⁻¹, taxa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹ e faixa de temperatura de 30 a 800 °C.

2.2.9 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A caracterização espectroscópica dos materiais de parede (goma arábica, pectina e gelatina), do AA puro e das microcápsulas liofilizadas foi realizada por meio da espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) em um equipamento Vertex 70 (Bruker, EUA) na faixa de 4000 a 600 cm⁻¹.

2.2.10 Perfil de liberação

O perfil de liberação das microcápsulas foi determinado por meio da variação de pH. Os valores de pH das soluções tampão utilizadas foram 1,1, 2,2, 5,4, 7,4, 9,6 e 12 (APENDICE 1). Cerca de 100 mg de microcápsulas liofilizadas foram adicionados em tubos de centrífuga contendo 10 mL da solução tampão relacionada com o pH escolhido, em triplicata. Os tubos permaneceram em repouso durante 5 h, sendo que alíquotas da amostra foram retiradas a cada 15 min na primeira hora e a cada 30 min a partir da segunda hora até completar 5 h. A quantidade de AA foi determinada para

cada alíquota de acordo com o método AOAC 967.21 (2010), modificado por Benassi e Antunes (1988).

2.2.11 Modelagem matemática da liberação de AA

Para os dados de liberação de AA foram avaliados cinco diferentes modelos matemáticos no processo de ajuste de dados: três deles derivam da lei da potência e os outros dois consistem em modelos empíricos propostos. A equação da lei de potência é dada por:

$$r = \frac{dC}{dt} = k(\Delta C)^n = k(C_{\infty} - C)^n \quad (2)$$

onde r é a taxa de liberação ($\text{mg.L}^{-1} \text{ min}^{-1}$), k é a constante da taxa de liberação (min^{-1}), C e C_{∞} são a concentração do componente ativo em um dado momento (t , min) e em equilíbrio (g AA g^{-1} meio extrativo), respectivamente, e n é a ordem da equação. Para todas as tentativas no início do processo ($t = 0$), a concentração do componente ativo no meio foi considerada como $C = 0$ e, portanto, omitida após a integração.

Modelo de ordem zero

Para $n = 0$, a Equação (2) é integrada a uma solução algébrica linear:

$$C = kt \quad (3)$$

Modelo de primeira ordem

Quando $n = 1$, a equação geral da lei da potência (Equação 2) pode ser integrada e reorganizada na seguinte forma:

$$C = C_{\infty}(1 - e^{-kt}) \quad (4)$$

Modelo de segunda ordem

A equação (2) pode ser resolvida analiticamente para $n = 2$ e rearranjada para obter:

$$C = \frac{t}{\frac{1}{kC_{\infty}^2} + \frac{t}{C_{\infty}}} \quad (5)$$

Modelos propostos

Ambos os modelos propostos para descrever a cinética de liberação de componentes ativos de microcápsulas compartilham semelhanças com a equação da lei de primeira ordem. O primeiro modelo proposto difere em três características: i) o tempo (t) é dividido por um parâmetro de peso (w_1), isto é, uma constante que equilibra seu tamanho; ii) a constante k_1 (k) agora fornece potência como um expoente de t/w_1 ; e iii) foi adicionada uma constante que tem o mesmo propósito matemático que o de C_{∞} , indicando o equilíbrio para a curva avaliada. A constante k_1 só pode ser comparada entre diferentes conjuntos de dados (curvas cinéticas) se um valor igual no parâmetro de peso (w_1) puder ser aplicado no parâmetro de peso (w_1). O primeiro modelo proposto (PM1) é dado por:

$$C = a \left(1 - e^{-\left(\frac{t}{w_1}\right)^{k_1}} \right) \quad (6)$$

onde a , w_1 e k_1 são constantes.

O segundo modelo proposto (PM2, Equação 7) compreende basicamente a soma de duas expressões de PM1 (Equação 6). Este modelo foi proposto com o objetivo de alcançar um melhor ajuste aos perfis de liberação em duas etapas. Estas cinéticas de liberação em duas etapas têm a forma de curvas sigmoidais duplas, que diferem das curvas exponenciais regulares e geralmente não são modeladas.

$$C = a \left(1 - e^{-\left(\frac{t}{w_1}\right)^{k_1}} \right) + b \left(1 - e^{-\left(\frac{t}{w_2}\right)^{k_2}} \right) \quad (7)$$

onde b , w_2 e k_2 são constantes. Para esta equação, a concentração final no equilíbrio pode ser prevista como:

$$C_{\infty} = a + b \quad (8)$$

Os parâmetros cinéticos para todos os modelos foram obtidos minimizando os erros quadráticos médios entre dados experimentais e calculados usando o método de otimização de Levenberg-Marquardt. A abordagem de estimativa de parâmetros para PM2 é descrita na seção Resultados e Discussão. Cálculos do desvio relativo absoluto médio (*AARD*, Eq. 9) e do erro médio quadrático (*RMSE*, Eq. 10) foram realizados para avaliar a adequação do ajuste dos modelos matemáticos.

$$AARD = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \left| \frac{C_{exp} - C_{pred}}{C_{exp}} \right|_i \times 100 \quad (9)$$

$$RMSE = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(C_{exp} - C_{pred})^2}{n}} \quad (10)$$

onde n é o número de pontos experimentais ($t = 0$ não foi incluído nos cálculos), e C_{exp} e C_{pred} são os dados experimentais e previstos da concentração do composto ativo no meio de liberação, respectivamente.

2.2.12 Análise de dados

Os resultados obtidos nas determinações analíticas foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Quando os resultados apresentaram diferenças significativas entre as médias, foram comparados pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de significância ($p \leq 0,05$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

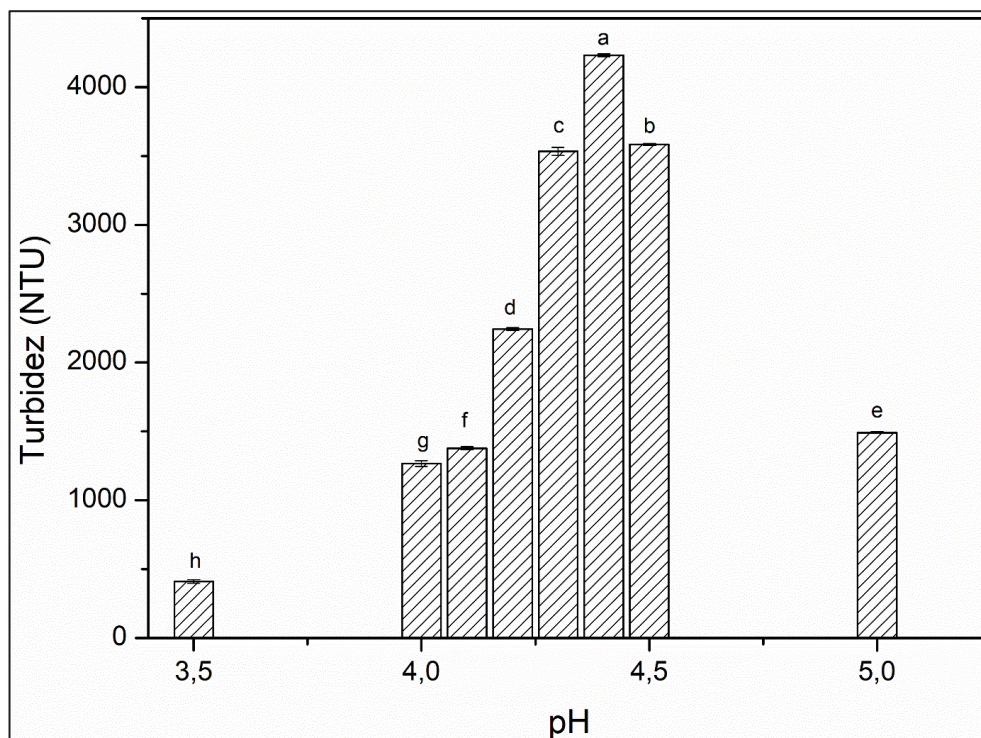
3.1 Determinação do pH de coacervação

A seleção do pH de coacervação foi baseado no estudo de turbidez das soluções dos pares poliméricos. O método permite avaliar a intensidade de interação entre os polímeros utilizados como materiais de parede, analisando-os em conjunto com base na variação do pH. Este método permite uma rápida estimativa da faixa de separação de fases e a determinação do pH ótimo de interação, já que o processo termodinâmico de separação de fases é caracterizado pela turbidez, onde o aumento da turbidez é um indicativo de maior interação eletrostática de todas as possíveis cargas negativas e positivas dos biopolímeros (EGHBAL e CHOUDHARY, 2018, THIES, 1995).

A Figura 2.2 apresenta as mudanças de turbidez em função do ajuste de pH. As mudanças mais significativas na turbidez podem ser visualizadas quando a faixa de pH do sistema se aproxima ao ponto isoelétrico da gelatina. Neste ponto, inicia-se a formação de coacervados como resultado da interação de cargas entre os polímeros já ionizados com cargas opostas.

Através do aumento da turbidez com o ajuste do pH foi possível observar que a máxima interação entre as cargas ocorreu em pH 4,4, ou seja, este pH corresponde ao equilíbrio das cargas entre os polímeros. Outros autores utilizaram em seus experimentos a mesma proporção de 1:1 entre gelatina e goma arábica e observaram que a maior interação ocorreu na faixa de pH entre 4 e 4,5 (JOUZEL et al., 2003; LAMPRECHT, SCHÄFER e LEHR, 2001; XING et al., 2005). Quando o pH é reduzido para 3,5 pode ser observada uma redução na turbidez da solução. A adição de ácido à solução provoca a abertura e ionização dos grupos NH_2 e COOH da goma arábica, porém em meios fortemente ácidos ocorre uma inibição desta ionização, diminuindo a intensidade de interação com a proteína carregada positivamente.

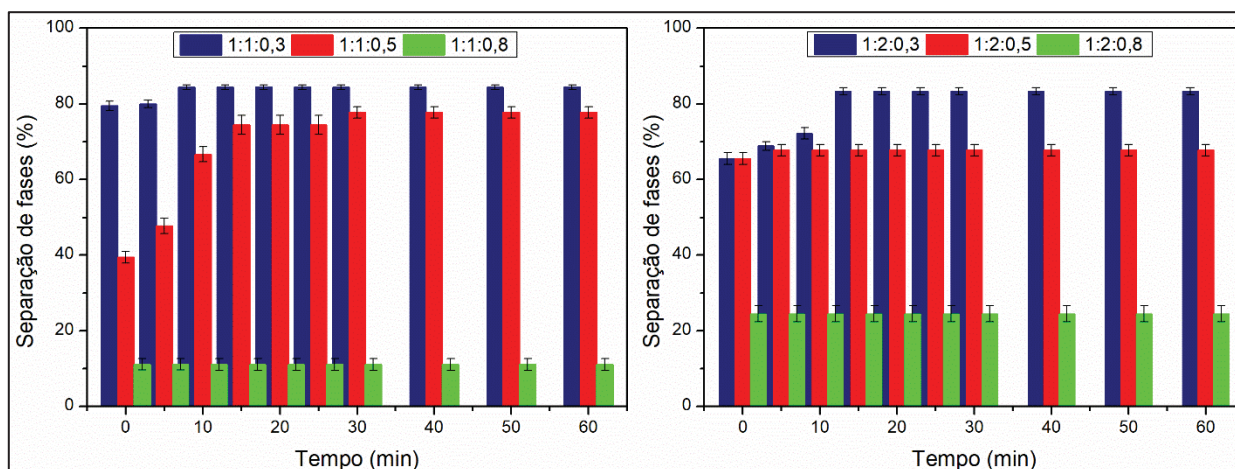
Figura 2.2 – Efeito do pH na mudança de turbidez para a mistura do par polimérico gelatina:goma arábica na proporção de 1:1 (v/v).



3.2 Estabilidade das emulsões simples

Os resultados dos testes de estabilidade realizados para as emulsões simples A/O nas proporções de 1:1 e 1:2 estão apresentados na Figura 2.3

Figura 2.3 - Estabilidade das emulsões simples A/O



*1:1 e 1:2 proporção fase aquosa/ fase oleosa; 0,3, 0,5 e 0,8% (m/m) concentrações do emulsificante lipofílico PGPR 90 em relação à massa total da emulsão.

As emulsões preparadas com concentrações de PGPR de 0,3% e 0,5% em proporção mássica de 1:1 (fase aquosa/fase oleosa) apresentaram separação de fase logo após o preparo. A emulsão adicionada de 0,5% de emulsificante sofreu aumento da porcentagem de separação de fases ao longo dos 60 minutos de análise, chegando perto dos 80% de separação de fases.

O comportamento das emulsões preparadas com proporção mássica de 1:2 (fase aquosa/fase oleosa) sob concentrações de 0,3% e 0,5% foi similar ao da proporção 1:1. As emulsões contendo 0,8% de emulsificante em ambas as proporções apresentaram separação de fases, porém em menor intensidade e com estabilidade durante os 60 minutos da análise. A emulsão com a proporção mássica 1:1 (fase aquosa/fase oleosa) foi escolhida para a sequência do trabalho por apresentar menor quantidade de óleo.

A partir dos resultados obtidos nos testes de estabilidade das emulsões foi possível familiarizar-se com a técnica, assim como direcionar a escolha dos níveis e das variáveis utilizadas no planejamento experimental.

3.3 Determinação da velocidade e do tempo de homogeneização

Os resultados apresentados na Tabela 2.6 revelam que as variáveis do processo de emulsificação influenciaram significativamente na eficiência de encapsulação, a qual variou de 3 a 92%. Maiores velocidade e tempo de homogeneização resultaram em aumento da eficiência de encapsulação. A 18000 rpm mantidos por 2 min de homogeneização a eficiência de encapsulação das microcápsulas foi de apenas 3%. As condições de 20000 rpm/3 min e 4 min e 22000 rpm/3 min não apresentaram diferença significativa. A amostra que foi homogeneizada durante 4 min a 22000 rpm foi a que apresentou a maior eficiência de encapsulação, 92%. Portanto, estes foram a velocidade e o tempo de homogeneização selecionados para a produção das microcápsulas, lembrando que para este teste a concentração dos materiais de parede foi fixada em 2,5 g/100 mL e a proporção do núcleo foi de 50%.

Tabela 2.6 - Influência da velocidade e tempo de homogeneização das emulsões na eficiência de encapsulação.

Tempo (min)	Velocidade (rpm)	Eficiência de encapsulação (%)
4	20.000	52 ^b ± 3
3	22.000	56 ^b ± 3
2	18.000	3 ^e ± 1
3	18.000	20 ^d ± 3
4	22.000	92 ^a ± 1
2	20.000	37 ^c ± 1
2	22.000	39 ^c ± 4
4	18.000	19 ^d ± 1
3	20.000	54 ^b ± 1

3.3 Caracterização das microcápsulas

3.3.1 Eficiência de encapsulação (EE), diâmetro médio, umidade, atividade de água (A_w), solubilidade e higroscopicidade

A Tabela 2.7 apresenta os resultados obtidos para a EE, umidade, atividade de água, solubilidade e higroscopicidade das microcápsulas liofilizadas de todas as formulações testadas.

A eficiência de encapsulação das microcápsulas de AA variou de 27% (S4) a 94% (S8). Tanto a concentração do material de parede quanto a proporção do núcleo tiveram uma forte influência nos resultados. Um aumento na porcentagem de núcleo resultou em maior eficiência de encapsulação, como por exemplo nas amostras S1, S2 e S3. Porém, ocorreu uma tendência inversa quando a concentração do material de parede aumentou para 7,5 g/100 mL. Além disso, nem todas as partículas produzidas com concentrações maiores de material de parede apresentaram maiores EE para a mesma porcentagem do núcleo, a exemplo das amostras S1 (49%) e S4 (27%). Portanto, um aumento na concentração do material da parede nem sempre é suficiente para garantir uma encapsulação adequada do núcleo.

Tabela 2.7 – Eficiência de encapsulação (EE), diâmetro médio, umidade, A_w , solubilidade e higroscopicidade das microcápsulas de AA liofilizadas para as diferentes formulações testadas.

Amostras	Concentração do material de parede (g/100 mL)	Proporção do núcleo (%)	EE (%)	Diâmetro médio (μm)	Umidade (%)	A_w	Solubilidade (%)	Higroscopicidade (g/100g)
S1	2,5	25	49 ^e \pm 4	10 ^{bcd} \pm 6	13 ^a \pm 2	0,240 ^c \pm 0,005	6,9 ^e \pm 0,2	3,6 ^{bc} \pm 0,3
S2	2,5	50	55 ^{de} \pm 3	10 ^{cd} \pm 6	2 ^b \pm 2	0,249 ^c \pm 0,001	7,5 ^{de} \pm 0,5	3,4 ^d \pm 0,5
S3	2,5	75	57 ^d \pm 3	11 ^b \pm 8	10 ^a \pm 1	0,285 ^b \pm 0,007	2,31 ^f \pm 0,03	2,57 ^{de} \pm 0,01
S4	5,0	25	27 ^f \pm 4	8 ^e \pm 5	4 ^b \pm 1	0,183 ^d \pm 0,011	12,2 ^c \pm 0,1	4,87 ^{ab} \pm 0,04
S5	5,0	50	67 ^c \pm 1	8 ^e \pm 8	1,6 ^b \pm 0,3	0,230 ^c \pm 0,01	14 ^b \pm 1	5 ^a \pm 1
S6	5,0	75	78 ^b \pm 3	12 ^a \pm 1	11 ^a \pm 2	0,299 ^b \pm 0,003	5,84 ^e \pm 0,03	1,52 ^e \pm 0,02
S7	7,5	25	61 ^d \pm 3	10 ^d \pm 6	2,7 ^b \pm 0,4	0,169 ^d \pm 0,005	8,66 ^d \pm 0,01	3,4 ^{bc} \pm 0,3
S8	7,5	50	94 ^a \pm 2	10 ^{bc} \pm 9	1,6 ^b \pm 0,5	0,249 ^c \pm 0,01	16 ^a \pm 1	2,5 ^{de} \pm 0,2
S9	7,5	75	56 ^d \pm 2	12 ^a \pm 1	3 ^b \pm 1	0,353 ^a \pm 0,01	11,2 ^c \pm 0,3	3,3 ^d \pm 0,2

Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si estatisticamente pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

As amostras com a mesma concentração de material de parede (2,5 g/100 mL), porém com diferentes proporções de núcleo de 50% (S2) e 75% (S3) não apresentaram diferença significativa em termos de EE. Para ambas as amostras, o aumento na proporção do núcleo resultou em menores valores de EE. Estes baixos valores de EE confirmam a hipótese de que a quantidade dos materiais de parede foi insuficiente para recobrir todo o núcleo, resultando em uma alta concentração de núcleo livre, ou seja, uma quantidade elevada de núcleo que não foi encapsulado, e que, como consequência, foi perdido durante o processo de encapsulação.

As amostras S5, S6 e S8 apresentaram elevada EE, o que pode ser explicado pelas maiores concentrações de material de parede (5,0 e 7,5 g/100 mL). Logo, estas concentrações foram suficientes para recobrir uma maior quantidade de núcleo, o que é de extrema importância para garantir que o material ativo seja aprisionado no interior da microcápsula e não perca sua funcionalidade. No entanto, mesmo com o aumento da concentração do material da parede de 2,5 para 5,0 g/100 mL, as amostras S1 e S4 apresentaram os valores mais baixos de EE. Estes resultados podem ser atribuídos ao aumento da viscosidade causada pela alta concentração de polímero, o que provavelmente interfere na formação das microcápsulas e resulta em menor mobilidade das macromoléculas. Como consequência, ocorre um aumento da competição destas moléculas por solvente (THIES, 1995). Outra hipótese é que alguns grupos carboxílicos carregados negativamente da goma arábica não estavam complexados com moléculas de gelatina, causando um desequilíbrio iônico e diminuindo o rendimento de encapsulação.

Na maioria dos trabalhos realizados com microencapsulação, maiores concentrações de material de parede tendem a aumentar a EE de forma linear. Este estudo apresentou um comportamento oposto, ou seja, não houve um aumento na EE com o aumento da concentração de material de parede, como pode ser observado nas amostras S1 e S4. Santos et al. (2015) estudaram a encapsulação do xilitol por coacervação complexa. A EE variou de 31,42 a 71,93%, e as menores eficiências de encapsulação foram encontradas para uma concentração de material de parede de 2,5 g/100 mL. A maior eficiência de encapsulação (71,93%) foi encontrada para a concentração de material de parede de 7,5 g/100 mL e com 50% de núcleo, em concordância com os resultados obtidos neste estudo.

O mesmo comportamento foi encontrado na encapsulação de oleoresina de açafrão por coacervação complexa no trabalho desenvolvido por Zuanon, Malacrida e

Telis (2013) onde sistemas com maior concentração de material de parede apresentaram maiores eficiência de encapsulação. A EE é alta na maioria dos estudos envolvendo coacervação complexa com agentes hidrofóbicos. Um exemplo é o estudo realizado por Rutz et al. (2016), onde foram encontrados valores acima de 95% na encapsulação de carotenoides.

Rutz et al. (2017) obtiveram EE de até 99% com óleo de palma e Yang et al. (2014) atingiram até 94% na encapsulação do óleo de baunilha. Os resultados obtidos nesta tese foram bastante variados devido à alta solubilidade do núcleo em água, assim como as possíveis interações eletrostáticas entre o material da parede e o núcleo. No entanto, estas interações foram minimizadas à medida que a solubilidade do AA diminuiu, devido à adição da etapa de emulsificação da solução de AA com óleo de milho e emulsificante, formando uma emulsão do tipo (A/O).

Agentes ativos hidrofílicos, como o AA, geralmente não podem ser encapsulados diretamente por coacervação complexa pois requerem a adição de um passo para a obtenção de uma emulsão do agente ativo em óleo. Esta etapa de emulsificação foi realizada neste estudo e nos trabalhos de Comunian et al. (2013), Rocha-Selmi et al. (2013b), Rocha-Selmi et al. (2013a) e Santos et al. (2015).

O diâmetro médio das microcápsulas é um parâmetro importante e pode direcionar a sua aplicação em matrizes de alimentos, pois pode influenciar na textura do alimento. As microcápsulas de AA obtidas neste trabalho exibem diâmetros entre 8 e 12 μm . De acordo com Favaro-Trindade et al. (2008), as microcápsulas produzidas por coacervação complexa possuem diâmetros entre 1 e 500 μm . A Tabela 2.7 mostra que houve diferença significativa entre as amostras, ou seja, as porcentagens entre material de parede e núcleo influenciaram no diâmetro médio das partículas.

As amostras S3 (11 μm), S6 (12 μm) e S9 (12 μm), que possuem 75% de núcleo, exibiram os maiores diâmetros médios, enquanto que as amostras S4, S5 e S7 apresentaram os menores diâmetros (8, 8 e 10 μm , respectivamente). Essas amostras foram produzidas com concentrações de material de parede de 5,0 e 7,5 g/100 mL e com 25 e 50% de núcleo, o que significa que o aumento na concentração de material de parede não resultou em diâmetros maiores, como observado em outros trabalhos (Rocha-Selmi et al., 2013a).

Os diâmetros médios obtidos neste trabalho foram inferiores aos encontrados em outros estudos. Comunian et al. (2013) obteve microcápsulas de AA com diâmetro médio variando de 51,67 a 83,82 μm . Rocha-Selmi et al. (2013b) obtiveram

microcápsulas de sucralose com um tamanho médio entre 81,04 a 113,49 μm . Santos et al. (2015) produziram microcápsulas de xilitol com diâmetros médios variando de 78,45 a 109,31 μm . Estas pesquisas utilizaram o mesmo material de parede que os do presente trabalho. A diferença de diâmetro observada pode ser atribuída às combinações entre velocidade e tempo de homogeneização utilizados nas emulsões simples, as quais neste estudo foram superiores às dos trabalhos mencionados.

Mendanha et al. (2009) utilizaram uma velocidade de homogeneização de 20000 rpm na microencapsulação do hidrolisado de caseína e obtiveram microcápsulas entre 16 e 24 μm utilizando a pectina e o hidrolisado de proteína de soja como materiais de parede. Além da velocidade de homogeneização e da proporção do núcleo, outros fatores podem influenciar no tamanho das partículas, como a concentração do material de parede e o método de secagem utilizados no processo (LAMPRECHT, SCHÄFER e LEHR, 2000; NAKAGAWA et al., 2004).

A umidade variou de 1,6 a 13%, sendo que as amostras S1, S3 e S6 apresentaram os maiores valores. As amostras S2, S4, S5, S7, S8 e S9 não apresentaram diferença significativa entre si, porém exibiram menor teor de umidade do que as amostras S1, S3 e S6.

A atividade de água (A_w) variou de 0,169 a 0,353. Estes baixos valores de A_w são desejáveis já que produtos alimentícios com A_w abaixo de 0,6 são mais estáveis microbiologicamente. Altos valores de A_w podem comprometer a estabilidade das microcápsulas obtidas e consequentemente do material ativo (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010). Os valores de A_w encontrados neste estudo são inferiores aos encontrados por Comunian et al. (2013) para microcápsulas de AA e por Gomez-Estaca et al. (2016) para microcápsulas de astaxantina de camarão, ambos os estudos utilizando o processo de coacervação complexa.

A solubilidade das microcápsulas de AA liofilizadas foi de 2,31 a 16% (Tabela 2.7). As amostras S5 (14%) e S8 (16%) apresentaram os maiores valores para a solubilidade em água, enquanto a amostra S3 (2,31%) exibiu a menor. A amostra S8 apresentou resultado semelhante ao obtido por Comunian et al. (2013) na microencapsulação do AA por coacervação complexa com os mesmos materiais de parede e com as mesmas concentrações de parede e núcleo. Os baixos valores de solubilidade são favoráveis, pois a baixa solubilidade é de grande importância para a estabilidade das microcápsulas em meio aquoso, principalmente quando o objetivo é a liberação controlada do composto ativo.

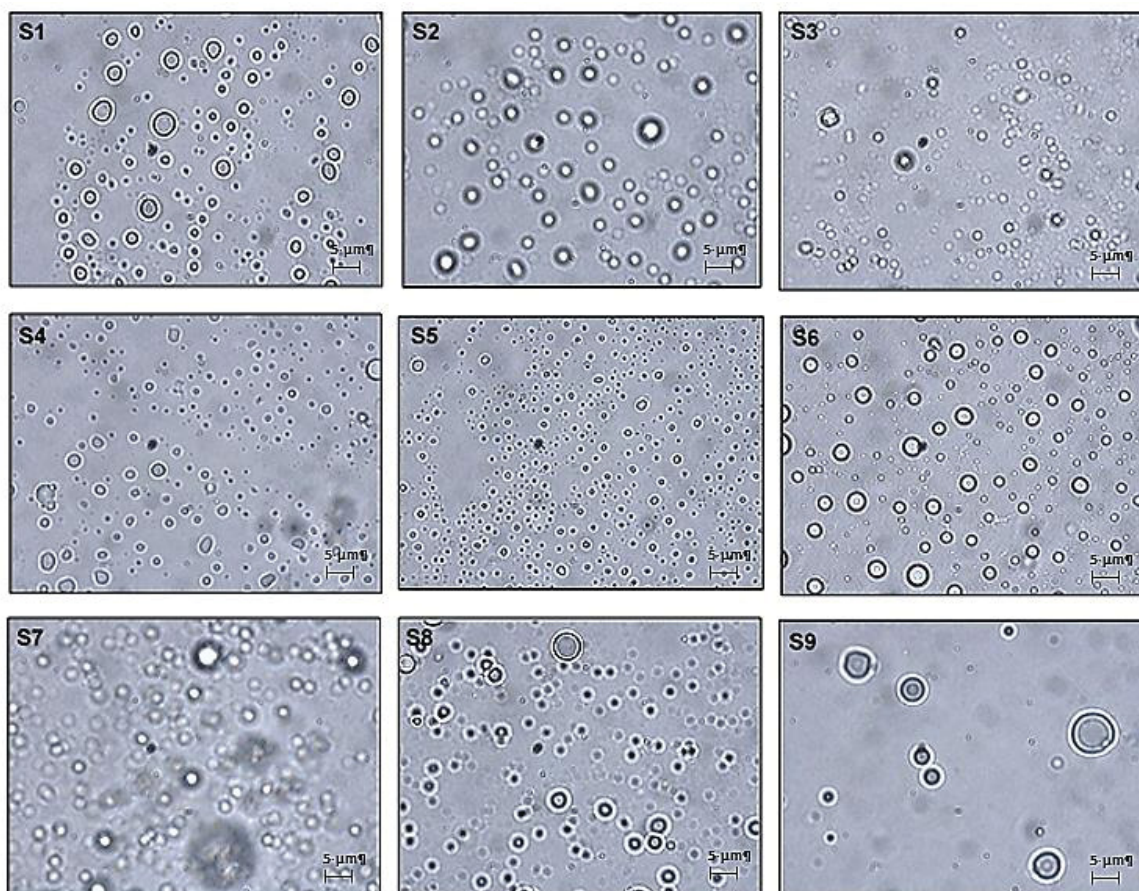
Os resultados obtidos para a higroscopicidade variaram de 1,52 a 5 g/100 g (Tabela 2.7), o que fornece às partículas uma boa estabilidade durante o armazenamento. Não foi encontrada relação entre a proporção de núcleo e a higroscopicidade, isto é, não houve aumento na higroscopicidade com o aumento da proporção do núcleo (NORI et al., 2011; SILVA et al., 2012). Os valores de higroscopicidade obtidos neste estudo foram menores do que os obtidos por Rocha-Selmi et al. (2013b) e por Mendanha et al. (2009) na microencapsulação da sucralose e do hidrolisado de caseína, respectivamente.

As análises de solubilidade e de higroscopicidade são muito importantes quando se trata de encapsulação, pois ajudam a determinar as condições de armazenamento e o tipo de produto em que as microcápsulas podem ser aplicadas, uma vez que a higroscopicidade corresponde à quantidade de água que o material pode absorver do meio ambiente e a solubilidade corresponde à capacidade de dissolução do material em um meio específico (COMUNIAN e FAVARO-TRINDADE, 2016).

3.3.2 Morfologia

A caracterização morfológica das microcápsulas foi realizada por meio de microscopia ótica e microscopia eletrônica de varredura. A Figura 2.4 apresenta a microscopia ótica das microcápsulas de AA antes do processo de liofilização para todos os tratamentos realizados. A maioria das microcápsulas apresentaram características morfológicas semelhantes, com formato arredondado, mononucleadas e com paredes bem definidas. A distribuição de tamanho foi variada provavelmente devido à diferença na concentração do material de parede e na proporção do núcleo utilizados na preparação das microcápsulas.

Figura 2.4 – Microscopia ótica das microcápsulas* de AA antes do processo de liofilização com aumento de 1000X.



*A concentração de GE:GA foi de 2,5 g/100 mL (S1, S2, S3) de 5,0 g/100 (S4, S5 e S6) e 7,5 g/100 mL (S7, S8, S9). A proporção do núcleo foi de 25% (S1, S4, S7); 50% (S2, S5, S8) e 75% (S3, S6, S9).

As Figuras 2.5, 2.6, 2.7, 2.8 e 2.9 apresentam as imagens da microscopia eletrônica de varredura das microcápsulas de AA liofilizadas para todos os tratamentos realizados. Todas as microcápsulas apresentaram estruturas semelhantes, formando aglomerados e pontes sólidas, o que é comum em microcápsulas que passaram pelo processo de secagem por liofilização.

Figura 2.5 – Micrografias das microcápsulas de AA liofilizadas das amostras S1 (2,5 g/100 mL e 25% de núcleo) e S2 (2,5 g/100 mL e 50% de núcleo) com aumento de 200 (A) e 23000X (B).

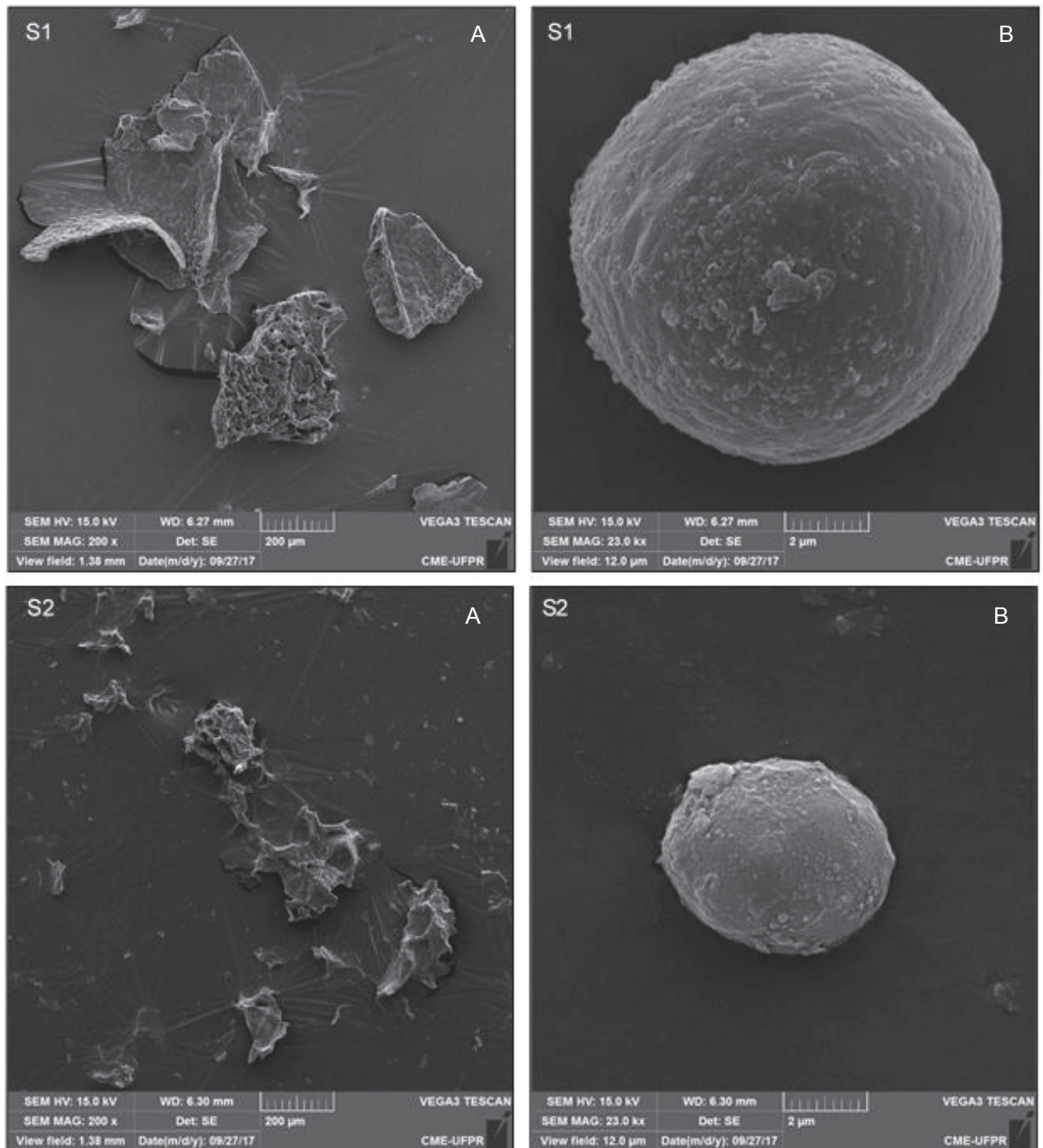


Figura 2.6 – Micrografias das microcápsulas de AA liofilizadas das amostras S3 (2,5 g/100 mL e 75% de núcleo) e S4 (5,0 g/100 mL e 25% de núcleo) com aumento de 200 (A) e 20000X (B).

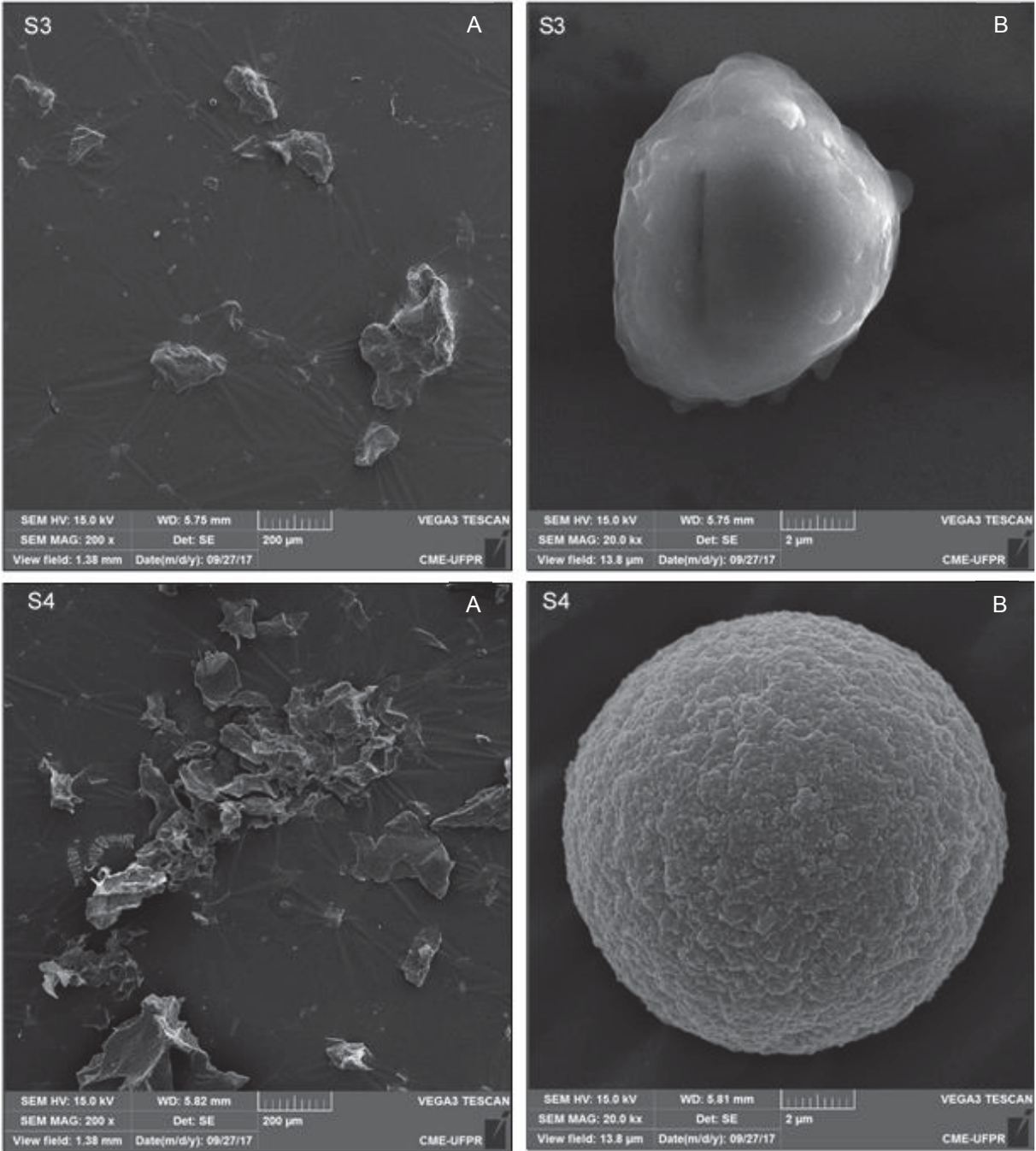


Figura 2.7 – Micrografias das microcápsulas de AA liofilizadas das amostras S5 (5,0 g/100 mL e 50% de núcleo) com aumento de 200 (A) e 23000X (B) e S6 (5,0 g/100 mL e 75% de núcleo) com aumento de 200 (A) e 20000X (B).

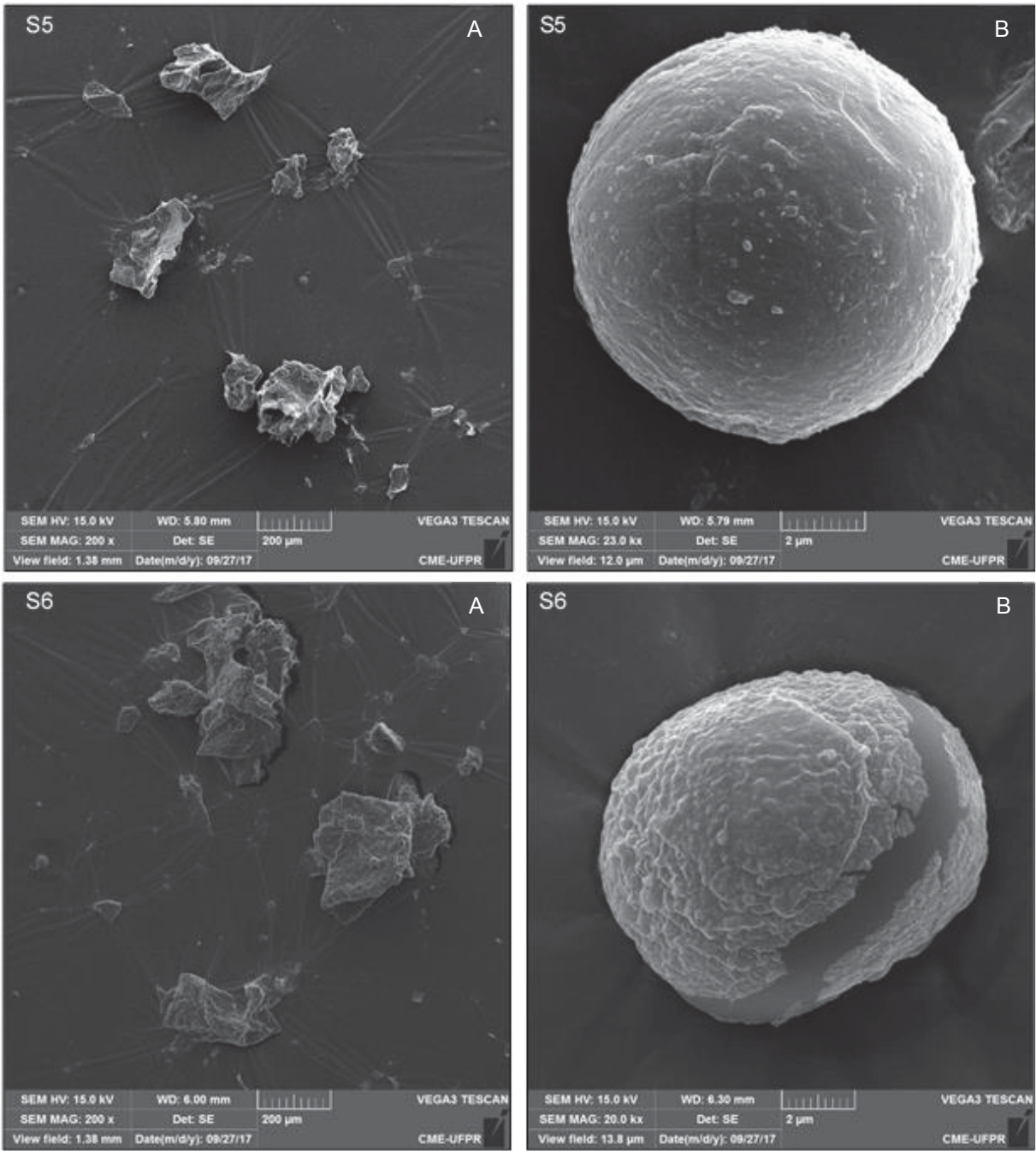


Figura 2.8 – Micrografias das microcápsulas de AA liofilizadas das amostras S7 (7,5 g/100 mL e 25% de núcleo) com aumento de 200 (A) e 23000X (B) e S8 (7,5 g/100 mL e 50% de núcleo) com aumento de 200 (A) e 20000X (B).

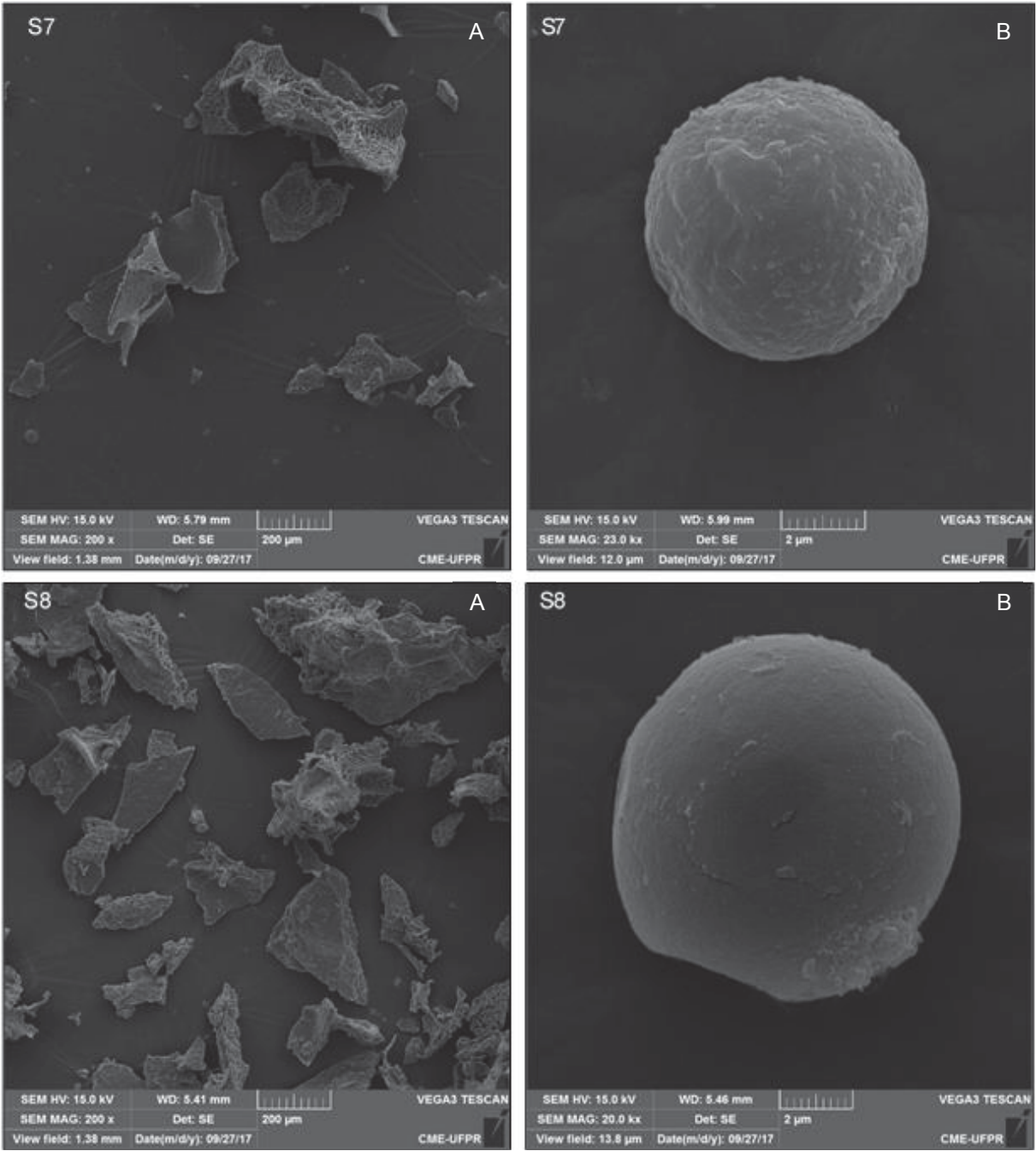
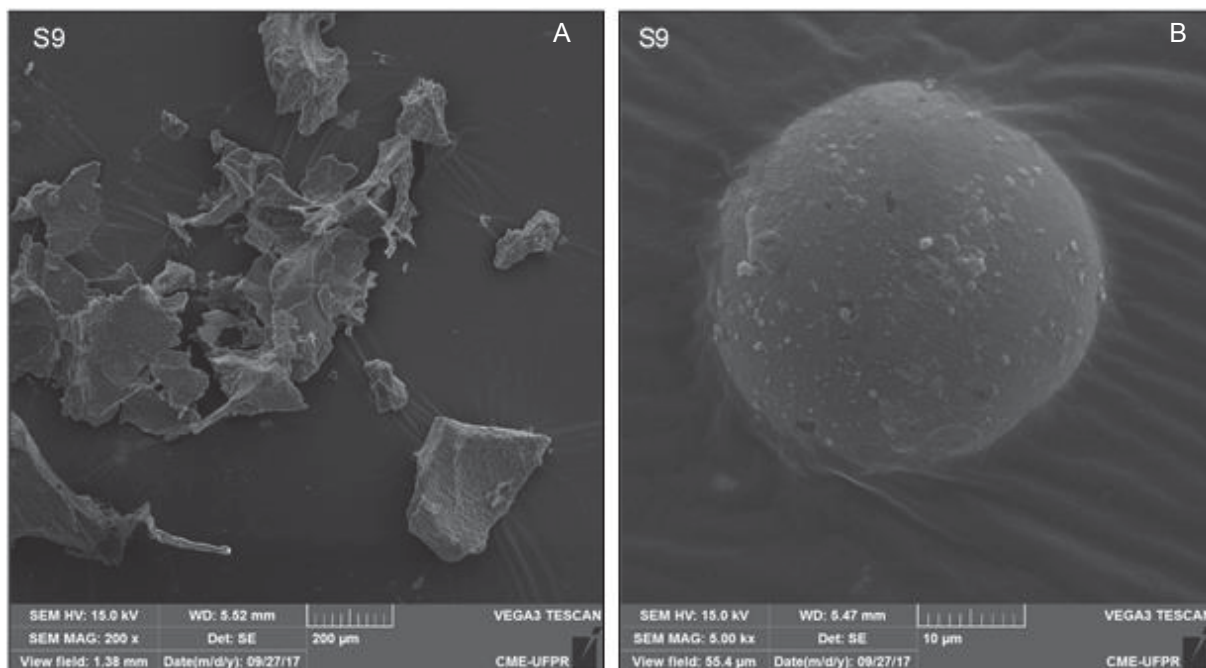


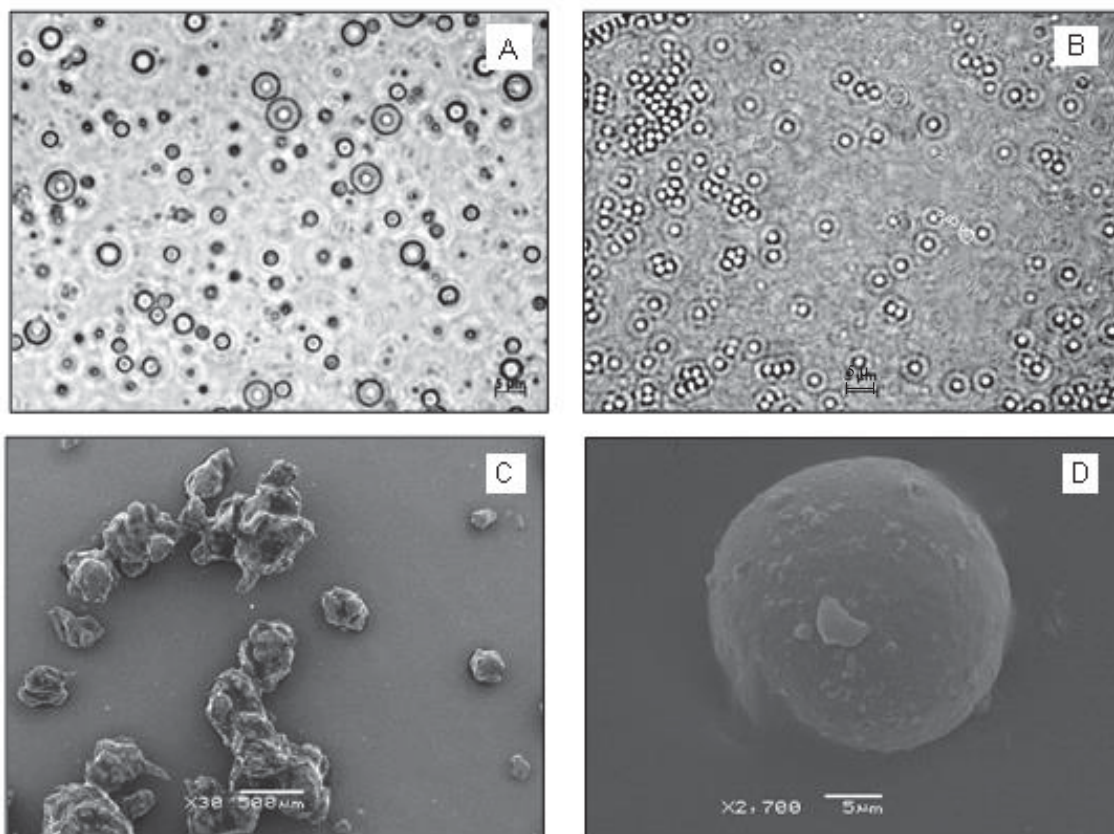
Figura 2.9 – Micrografias das microcápsulas de AA liofilizadas da amostra S9 (7,5 g/100 mL e 75% de núcleo) com aumento de 200 (A) e 5000X (B).



Para melhor visualização da morfologia das microcápsulas foi elaborada uma figura (Figura 2.10) com as duas microscopias da amostra S8 antes e depois do processo de liofilização. As microcápsulas apresentaram formato esférico, do tipo reservatório (Figura 2.10A e B), com núcleo claramente concentrado na região central e cercado por uma película definida e contínua de material de parede. De acordo com Dong et al. (2011), esse tipo de cápsula oferece excelentes características quando o objetivo é a liberação controlada do composto ativo.

A Figura 2.10C mostra microcápsulas aglomeradas, o que é muito comum em microcápsulas que foram submetidas à liofilização. Outros autores também observaram o mesmo comportamento (ALVIM e GROSSO, 2010; COMUNIAN et al., 2013; DE SOUZA et al., 2018; PRATA e GROSSO, 2015; ROCHA-SELMÍ et al., 2013b; SANTOS et al., 2014). A imagem da microscopia eletrônica de varredura da amostra S8 apresentou uma microcápsula com paredes sólidas e sem fissuras (Figura 2.10D), indicando que o processo de secagem escolhido para as partículas foi apropriado, pois o material encapsulado não apresentou danos na superfície. Uma superfície não danificada é importante para garantir maior proteção e retenção do material encapsulado.

Figura 2.10 - Micrografias das microcápsulas da amostra S8 (7,5 g/100 mL e 50% de núcleo): (A) microscopia óptica das microcápsulas coacervadas; (B) microscopia óptica das microcápsulas liofilizadas com aumento de 1600 X; (C) microscopia eletrônica de varredura das microcápsulas liofilizadas com aumento de 30 X; (D) microscopia eletrônica de varredura das microcápsulas liofilizadas com aumento de 2700 X.



3.4 Análise de cor

As mudanças nos parâmetros de cor das microcápsulas de AA durante 90 dias estão apresentadas nas Tabelas 2.8, 2.9 e 2.10. A Tabela 2.8 apresenta os valores do parâmetro L^* . As amostras S2 (2,5 g/100 mL de material de parede e 50% de núcleo) e S9 (7,5 g/100 mL de material de parede e 75% de núcleo) não apresentaram diferença significativa no período de análise. As demais amostras apresentaram uma diminuição nos valores de L^* , com exceção das amostras S1 e S5 que exibiram maiores valores em relação ao tempo 0, indicando que houve um aumento na luminosidade das amostras por conta das diferentes concentrações de material de parede e proporções de núcleo utilizadas nestas amostras.

Tabela 2.8 - Valores de L* das microcápsulas de AA durante 90 dias de armazenamento.

Amostras	Tempo 0	30 dias	60 dias	90 dias
S1	78,2 ^{Ac} ± 0,2	83 ^{Aa} ± 1	80,8 ^{Ab} ± 0,2	79,6 ^{Abc} ± 0,1
S2	78,06 ^{Aa} ± 0,02	78 ^{ABCDa} ± 4	77,8 ^{ABa} ± 0,2	76,8 ^{Ca} ± 0,1
S3	77,93 ^{Aa} ± 0,06	73,7 ^{CDd} ± 0,3	76,9 ^{Bb} ± 0,1	75,7 ^{Dc} ± 0,1
S4	72,59 ^{Da} ± 0,03	72,31 ^{Da} ± 0,04	69,2 ^{Cb} ± 0,1	69,8 ^{Gb} ± 0,3
S5	76,18 ^{Bb} ± 0,01	80 ^{ABa} ± 1	78,4 ^{ABab} ± 0,6	78,6 ^{Ba} ± 0,1
S6	74,4 ^{Cab} ± 0,1	78,5 ^{ABCa} ± 0,5	71 ^{Cbc} ± 3	65,5 ^{Hc} ± 0,1
S7	76,2 ^{Ba} ± 0,1	76,1 ^{BCDa} ± 0,2	72,1 ^{Cb} ± 0,1	71,9 ^{Fb} ± 0,1
S8	78,2 ^{Ab} ± 0,3	80,0 ^{ABa} ± 0,3	76,7 ^{Bc} ± 0,2	74,8 ^{Ed} ± 0,5
S9	76,2 ^{Ba} ± 0,2	75,6 ^{BCDa} ± 0,5	76,0 ^{Ba} ± 0,1	75,2 ^{DEa} ± 0,1

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna e letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si estatisticamente pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

A concentração de GE:GA foi de 2,5 g/100 mL (S1, S2, S3) de 5,0 g/100 (S4, S5 e S6) e 7,5 g/100 mL (S7, S8, S9). A proporção do núcleo foi de 25% (S1, S4, S7) 50% (S2, S5, S8) e 75% (S3, S6, S9).

A Tabela 2.9 apresenta os resultados obtidos para o parâmetro a* de todas as formulações das microcápsulas de AA durante os 90 dias de armazenamento. O parâmetro a*, que varia do verde (-) ao vermelho (+), indicou que as amostras S7, S8 e S9 – com concentração de 7,5 g/100 mL do par polimérico (gelatina+goma arábica) – e a amostra S5 – com concentração de 5,0 g/100 mL do par polimérico (gelatina+goma arábica) – sofreram maior alteração de cor do que as demais amostras. Como os valores foram positivos para a maioria das amostras, a análise indica que houve uma tendência para o vermelho, com exceção da amostra S6, a qual exibiu valores negativos de a* aos 60 dias de armazenamento.

Tabela 2.9 - Valores de a* das microcápsulas de AA durante 90 dias de armazenamento.

Amostras	Tempo 0	30 dias	60 dias	90 dias
S1	0,31 ^{Db} ± 0,06	1,9 ^{Da} ± 0,5	2,3 ^{da} ± 0,1	2,7 ^{Ea} ± 0,1
S2	1,06 ^{Ca} ± 0,04	0,8 ^{DEa} ± 0,3	0,88 ^{Ea} ± 0,08	0,98 ^{Fa} ± 0,04
S3	1,62 ^{Ba} ± 0,05	0,16 ^{Ec} ± 0,04	0,76 ^{Eb} ± 0,06	0,7 ^{Fb} ± 0,1
S4	3,79 ^{Dc} ± 0,05	6,1 ^{Bb} ± 0,1	6,4 ^{Cb} ± 0,1	9,1 ^{Ba} ± 0,1
S5	1,55 ^{Bc} ± 0,04	3,7 ^{Cab} ± 0,5	3,1 ^{Cb} ± 0,1	4,8 ^{Da} ± 0,2
S6	1,63 ^{Ba} ± 0,04	0,7 ^{Eb} ± 0,2	-0,2 ^{Fc} ± 0,1	-0,02 ^{Gc} ± 0,03
S7	2,65 ^{Ac} ± 0,06	9,1 ^{Ab} ± 0,1	9,2 ^{Ab} ± 0,1	13,7 ^{Aa} ± 0,1
S8	2,68 ^{Ac} ± 0,09	5,7 ^{Bb} ± 0,1	5,5 ^{Ab} ± 0,1	9,3 ^{Ba} ± 0,1
S9	3,1 ^{Cc} ± 0,1	4,2 ^{Cb} ± 0,3	4,4 ^{Bb} ± 0,1	5,8 ^{Ca} ± 0,2

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna e letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si estatisticamente pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

A concentração de GE:GA foi de 2,5 g/100 mL (S1, S2, S3) de 5,0 g/100 (S4, S5 e S6) e 7,5 g/100 mL (S7, S8, S9). A proporção do núcleo foi de 25% (S1, S4, S7), 50% (S2, S5, S8) e 75% (S3, S6, S9).

A Tabela 2.10 apresenta os valores obtidos para o parâmetro b* de todas as formulações das microcápsulas de AA durante os 90 dias de armazenamento. Houve alteração de cor nas amostras durante este período, com aumento significativo nos

valores de b^* , com exceção da amostra S6. Esse aumento pode estar relacionado com o AA não encapsulado presente na superfície da microcápsulas.

Tabela 2.10 - Valores de b^* das microcápsulas de AA durante 90 dias de armazenamento.

Amostras	Tempo 0	30 dias	60 dias	90 dias
S1	6,9 ^{Fb} ± 0,1	13 ^{Aa} ± 1	12,4 ^{ABa} ± 0,1	13 ^{Ba} ± 1
S2	6,3 ^{Gb} ± 0,05	9 ^{Ca} ± 2	9,5 ^{DEa} ± 0,1	9,1 ^{Ea} ± 0,1
S3	8,1 ^{Ec} ± 0,1	8,8 ^{BCb} ± 0,2	11,02 ^{BCDEa} ± 0,04	10,7 ^{Da} ± 0,1
S4	9,30 ^{Dc} ± 0,03	14,9 ^{Aa} ± 0,5	13,5 ^{Ab} ± 0,1	15,9 ^{Aa} ± 0,3
S5	7,8 ^{Ec} ± 0,1	12,7 ^{Aa} ± 0,5	10,4 ^{CDEb} ± 0,1	11,91 ^{BCDa} ± 0,04
S6	15,18 ^{Aa} ± 0,04	15 ^{Aab} ± 1	11 ^{BCDbc} ± 1	8,8 ^{Ec} ± 0,1
S7	10,1 ^{BCb} ± 0,1	12,6 ^{Aa} ± 0,1	10,7 ^{Bbcde} ± 0,2	12,3 ^{BCa} ± 0,1
S8	9,7 ^{Cb} ± 0,2	11 ^{ABCa} ± 1	9,4 ^{Eb} ± 0,1	11,3 ^{CDa} ± 0,1
S9	10,3 ^{Bb} ± 0,1	12 ^{ABa} ± 1	11,5 ^{BCab} ± 0,1	12,2 ^{BCa} ± 0,1

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna e letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si estatisticamente pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

A concentração de GE:GA foi de 2,5 g/100 mL (S1, S2, S3) de 5,0 g/100 (S4, S5 e S6) e 7,5 g/100 mL (S7, S8, S9). A proporção do núcleo foi de 25% (S1, S4, S7), 50% (S2, S5, S8) e 75% (S3, S6, S9).

3.5. Estabilidade do ácido ascórbico

A Tabela 2.11 apresenta os resultados de estabilidade das microcápsulas de AA durante o período de 60 dias e para o AA puro (controle) durante 15 dias. O AA em solução é suscetível a oxidação, principalmente quando é exposto a fatores como a luz, o calor e o oxigênio (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010). Neste trabalho não houve variação de temperatura e as amostras não foram expostas à luz, mas mesmo assim houve uma rápida degradação do AA puro, como pode ser observado na Tabela 2.11. A degradação do AA não encapsulado foi mais rápida do que a do AA encapsulado: somente 15% de AA disponível em 15 dias versus uma retenção de 21% a 90,3%. Devido à alta degradação do AA só foi possível fazer a sua quantificação até o 18º dia, quando havia restado somente 2,5% de AA.

Tabela 2.11 – Estabilidade das microcápsulas de AA durante 60 dias de armazenamento à 20 °C, expressa em %.

Amostras	1º dia	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias
S1	49 ^e ± 4	38 ^d ± 3	27 ^e ± 4	13 ^{ef} ± 6	6 ^{cd} ± 5
S2	55 ^{de} ± 3	52 ^{bc} ± 3	48 ^b ± 4	39 ^b ± 4	21 ^b ± 4
S3	57 ^d ± 3	49 ^{bc} ± 4	35 ^{cde} ± 5	27 ^c ± 1	8 ^{bcd} ± 1
S4	27 ^f ± 5	21 ^e ± 6	13 ^f ± 5	4 ^f ± 4	3 ^d ± 2
S5	68 ^c ± 1	53 ^b ± 4	49 ^b ± 4	37 ^{bc} ± 5	19 ^b ± 6
S6	78 ± 3	50 ^{bc} ± 3	41 ^{bcd} ± 3	34 ^{bc} ± 3	14 ^{bcd} ± 4
S7	61 ^d ± 3	43 ^{cd} ± 1	33 ^{ed} ± 4	21 ^{de} ± 4	11 ^{bcd} ± 2
S8	94 ^a ± 2	90,3 ^a ± 0,3	80 ^a ± 1	56 ^a ± 2	34 ^a ± 6
S9	56 ^d ± 2	55 ^b ± 2	43 ^{bc} ± 1	32 ^{bc} ± 1	16 ^{bc} ± 4
AA puro	100,00 ± 0,02	15 ± 1	-	-	-

Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si estatisticamente pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

A concentração de GE:GA foi de 2,5 g/100 mL (S1, S2, S3) de 5,0 g/100 (S4, S5 e S6) e 7,5 g/100 mL (S7, S8, S9). A proporção do núcleo foi de 25% (S1, S4, S7), 50% (S2, S5, S8) e 75% (S3, S6, S9).

Este comportamento de deterioração do AA não encapsulado também foi observado por Comunian et al. (2013) e Comunian et al. (2014). As amostras microencapsuladas também apresentaram instabilidade, porém com uma taxa de degradação bem menor. De maneira geral, as amostras microencapsuladas apresentaram um comportamento semelhante, com uma degradação mais lenta ao longo dos 60 dias de armazenamento, com exceção das amostras S8 e S4, que apresentaram a maior (34%) e a menor (3%) estabilidade ao longo deste período.

Quando a EE é baixa significa que há muito núcleo na superfície da microcápsula que não foi encapsulado, resultando em menor estabilidade, como foi observado na amostra S4. Esta amostra também apresentou um dos menores diâmetros médios (Tabela 2.7). De fato, quanto menor o tamanho da microcápsula, maior a superfície exposta de AA, portanto menor a sua estabilidade. O contrário vale para a amostra S8, que apresentou um diâmetro maior, com isso uma menor superfície de exposição, o que poderia explicar sua maior estabilidade.

Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que o processo de encapsulação aumentou significativamente a estabilidade do AA quando comparado a outros estudos. Na publicação de Comunian et al. (2013) sobre a microencapsulação do AA utilizando uma emulsão dupla seguida de coacervação complexa, foi obtida uma retenção de 60% de AA em 30 dias de armazenamento, valor inferior ao obtido nesta pesquisa (80%± 1%) para a mesma concentração de materiais de parede e núcleo (7,5 g/100 mL de gelatina e goma arábica e 50% de núcleo – amostra S8). Esta maior estabilidade pode ser atribuída às condições de preparo da emulsão simples, considerada como núcleo, que neste trabalho foram

diferentes das condições utilizadas por Comunian et al. (2013). Rozman e Gašperlin (2007) encapsularam o AA através de micro-emulsões do tipo A/O, e como resultado conseguiram apenas 60% de retenção do AA nas amostras armazenadas a temperatura ambiente durante um período de 30 dias.

3.6 Análise térmica

A análise termogravimétrica foi realizada com o objetivo de avaliar a estabilidade térmica das microcápsulas, dos polímeros utilizados como material de parede e do núcleo. A Figura 2.11 apresenta os termogramas das microcápsulas da amostra S8, da gelatina, da goma arábica e do AA puro e suas respectivas derivadas.

Os picos observados nas curvas DTG (Figura 2.11B) identificam o início e o fim de um evento de degradação térmica. O termograma para a amostra de AA puro apresentou dois eventos térmicos, um evento de 194 a 250 °C com perda de 32,3% de massa, e outro de 275 a 311 °C com perda 12,4% de massa, como pode ser observado na Tabela 2.12. De acordo com Jingyan et al. (2013), o principal evento relacionado à decomposição do AA ocorre de 191 a 268 °C, com a perda simultânea de uma molécula de H₂O e uma molécula de CO₂. Ao final da análise, restaram cerca de 20% de materiais que não conseguiram volatilizar até 800 °C, tais como as cinzas.

A gelatina apresentou dois eventos térmicos de degradação, um na faixa de 31 a 139 °C, com aproximadamente 9,3% de perda de massa, provavelmente devido à perda de água da amostra (TORINI, ARGILLIER e ZYDOWICZ, 2005). O outro evento ocorreu de 251,7 a 391,3 °C, correspondendo a 57% de perda de massa (Tabela 2.12), faixa de temperatura em que ocorre a degradação de proteínas. A goma arábica apresentou dois eventos térmicos bem definidos. O primeiro evento (38 a 90 °C) apresentou uma perda de massa de 8,7%, e no segundo evento (286 a 339 °C) houve perda de 53% de massa devido à degradação dos polissacarídeos.

O processo de degradação térmica da amostra S8 apresentou dois eventos térmicos. O primeiro evento ocorreu de 168 a 218 °C, com apenas 4% de perda de massa. O segundo evento (377 a 456 °C) foi caracterizado por significativa perda de massa (cerca de 85%), o que pode ser atribuído à liberação do material do núcleo juntamente com a decomposição do polissacarídeo e da proteína utilizada como materiais de parede (LV et al., 2013).

Na Figura 2.12 observa-se que todas as amostras apresentaram comportamento semelhante, com diferença na intensidade dos picos e nas temperaturas de degradação de cada amostra. Estas diferenças podem ser melhor visualizadas na Tabela 2.12 que apresenta os parâmetros termogravimétricos de todas as amostras, assim como dos materiais de parede e do núcleo. A maior parte das amostras apresentaram três eventos de degradação térmica, com exceção das amostras S3, S8 e S9, que apresentaram dois eventos. De forma geral observa-se que houve um aumento na estabilidade térmica das amostras quando comparadas aos materiais de parede puros e que a proporção do núcleo influenciou na temperatura de degradação térmica da primeira etapa.

Os resultados confirmam que a estabilidade térmica do AA melhorou significativamente com o processo de microencapsulação. Isto pode ser atribuído à resistência térmica dos materiais utilizados como invólucro das microcápsulas, resultando em uma transferência de calor mais lenta. Com o aumento da estabilidade térmica do AA microencapsulado, houve também um aumento na faixa de temperatura em que este composto ativo pode ser incorporado em matrizes alimentícias sem perder as suas propriedades ativas durante o processamento.

Figura 2.11 - Comportamento térmico do AA puro, gelatina, goma arábica e das microcápsulas da amostra S8.

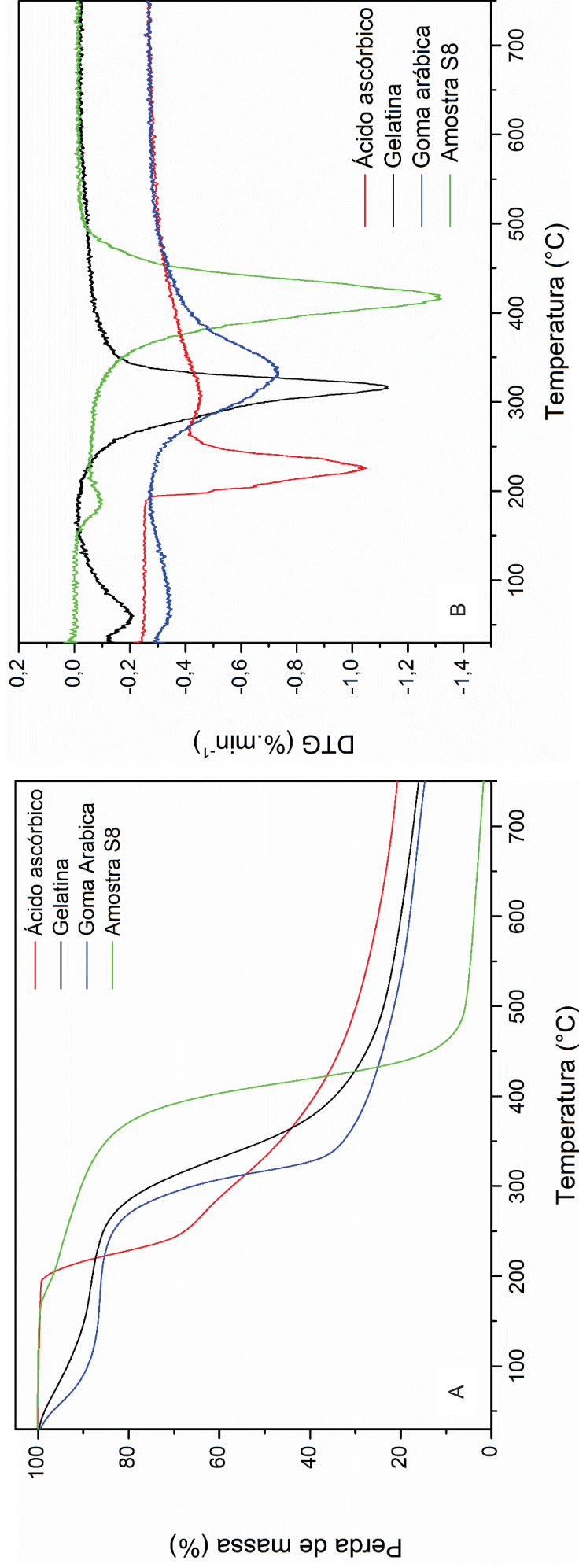


Figura 2.12 - Comportamento térmico das microcápsulas de AA e de suas respectivas derivadas.

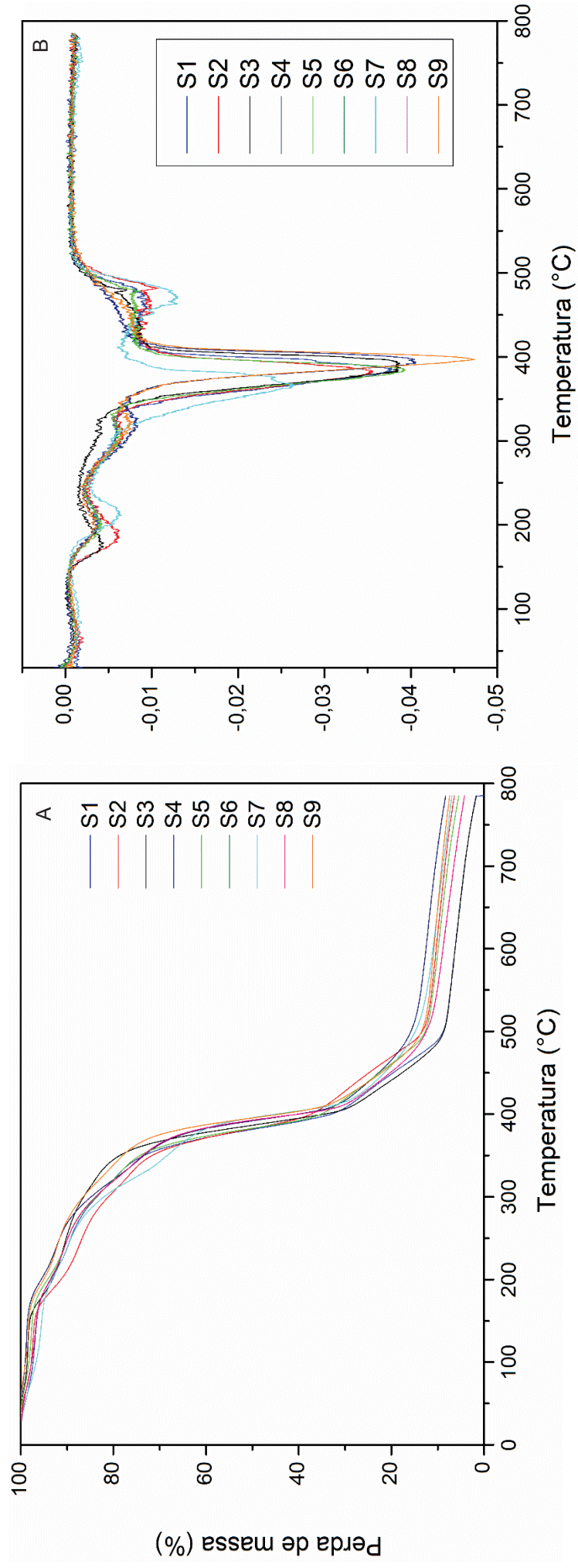


Tabela 2.12 - Parâmetros termogravimétricos das amostras, da gelatina, da goma arábica e AA.

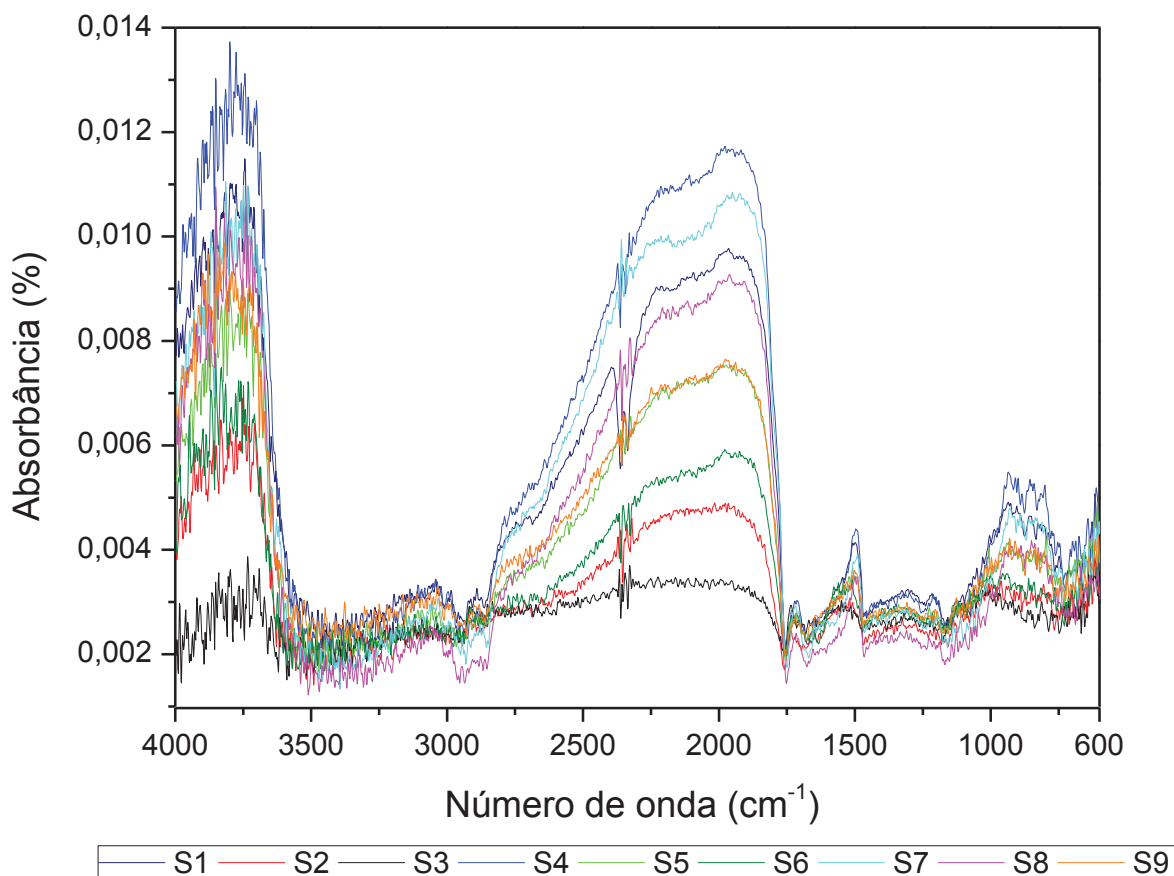
Amostras	Etapas de degradação	Ti (°C)	Tp (°C)	Tf (°C)	Δm %
S1	1 ^a	183,5	195,3	212,9	11,2%
	2 ^a	345,9	383,1	404,5	51,1
	3 ^a	463,1	474,9	492,1	37,9
Resíduo					0,1
S2	1 ^a	162,4	185,2	213,6	2,7
	2 ^a	291,7	304,5	324,8	6,4
	3 ^a	348,5	383,1	403,8	45,4
Resíduo					0,5
S3	1 ^a	158,2	172,1	200,2	3,5
	2 ^a	357,7	384,2	409,2	55,1
Resíduo					0,3
S4	1 ^a	174,7	196,1	218,7	4,0
	2 ^a	280,1	312,8	334,3	9,9
	3 ^a	367,5	393,1	411,6	56,6
Resíduo					0,3
S5	1 ^a	173,9	199,9	205,9	2,1
	2 ^a	294,1	298,1	317,9	5,2
	3 ^a	354,5	382,9	400,2	52,2
Resíduo					
S6	1 ^a	147,9	213,6	232,4	8,1
	2 ^a	341,3	365,1	388,3	40,4
	3 ^a	453,3	473,2	499,2	51,5
Resíduo					0,2
S7	1 ^a	193,3	199,9	207,1	1,2
	2 ^a	292,3	317,5	340,6	15,8
	3 ^a	380,5	401,1	417,2	52,5
Resíduo					0,2
S8	1 ^a	168	184,4	218	4,0
	2 ^a	377,2	418,3	456,3	85
Resíduo					0,1
S9	1 ^a	174,1	192,4	222,3	4,1
	2 ^a	369,7	395,9	415,6	56,3
Resíduo					0,3
Gelatina	1 ^a	31	68,3	138,9	9,3
	2 ^a	251,7	335,3	391,4	57,3
Resíduo					0,7
GA	1 ^a	38,8	60,5	90,8	8,7
	2 ^a	286,6	317,8	339,7	53,1
Resíduo					0,6
AA	1 ^a	194	224,4	250,1	32,3
	2 ^a	275,3	310	311	12,4
Resíduo					0,1

Ti, temperatura inicial; Tp, temperatura de pico; Tf, temperatura final; Δm , perda de massa.

3.7 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A análise de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier pode fornecer informações sobre as interações que ocorrem durante o processo de coacervação complexa entre a gelatina, a goma arábica e o AA. Os espectros obtidos para todas as amostras (S1 a S9) apresentaram um comportamento muito similar, com diferenças apenas na intensidade dos picos, como pode ser observado na Figura 2.13. Tais diferenças estão relacionadas à concentração do material de parede e à proporção do núcleo utilizado na produção das microcápsulas. Observa-se que as amostras com 25% de núcleo (S1, S3 e S7) apresentaram picos com uma intensidade maior. A Figura 2.14 apresenta os espectros da amostra S8, dos materiais de parede (gelatina e goma arábica) e do núcleo (AA). Esta amostra foi plotada separadamente das demais amostras para melhor visualização e comparação com os materiais de parede.

Figura 2.13 - Espectros obtidos por FTIR das amostras S1 a S9.



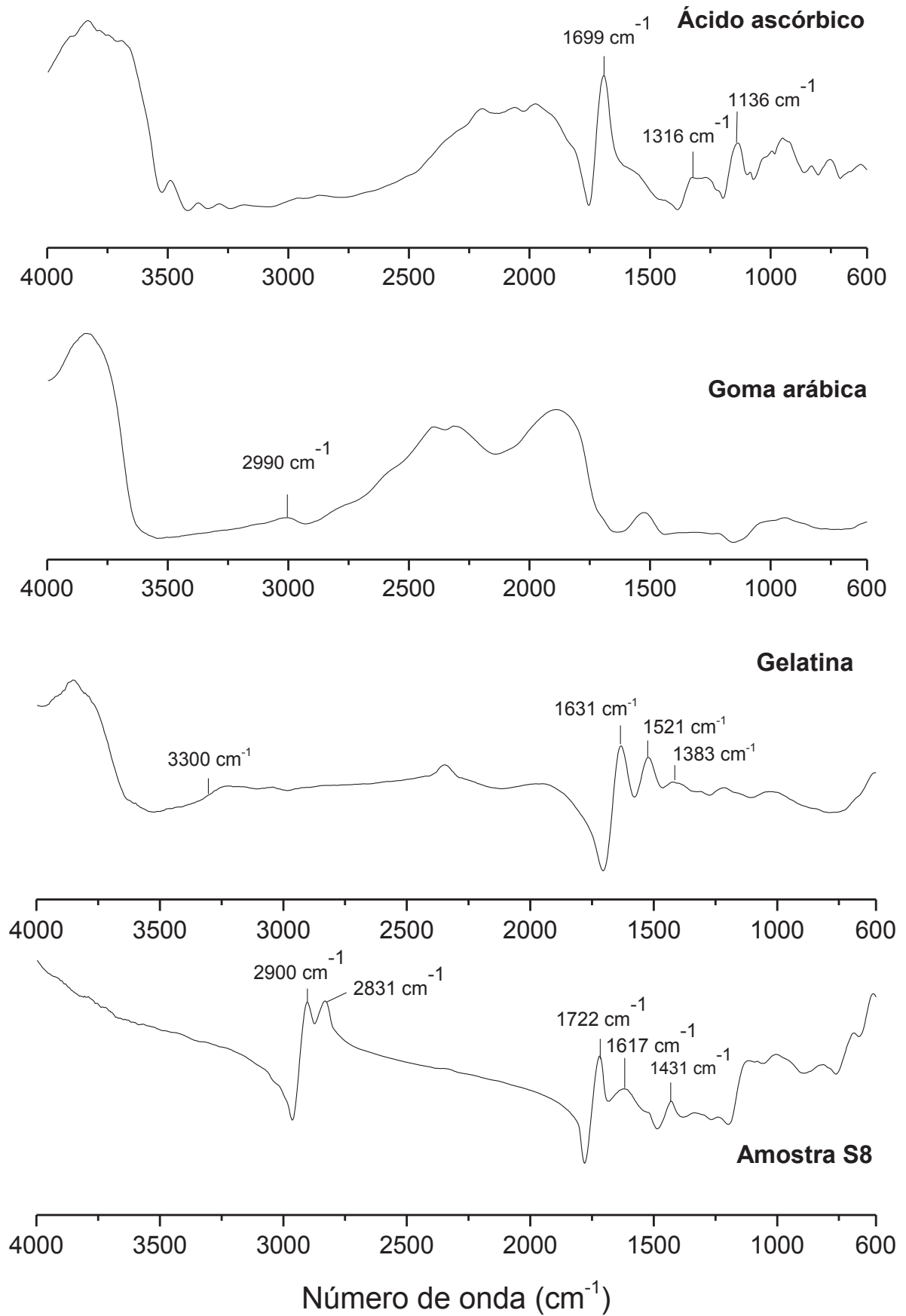
Os espectros obtidos para os materiais da parede, núcleo e amostra S8 são apresentados na Figura 2.15. A amostra do AA puro exibiu picos em 1136, 1316 e 1699 cm^{-1} , o que de acordo com Desai e Park (2005) pode ser atribuído às ligações C = O e aos grupos OH presentes na molécula do AA. O pico observado em 1699 cm^{-1} no espectro do AA puro é detectado também no espectro das partículas microencapsuladas da amostra S8, apesar de um pequeno deslocamento de 1699 cm^{-1} para 1722 cm^{-1} , confirmando a presença do material ativo.

Os picos na região de 3300 cm^{-1} no espectro de gelatina são característicos de grupos amina. Estes picos aparecem geralmente em resíduos básicos de aminoácidos tais como lisina, histidina e arginina e, dependendo do pH do meio, podem mostrar cargas positivas. Outros picos podem ser observados na molécula de gelatina na região de 1550 a 1650 cm^{-1} . O pico a 1631 cm^{-1} no espectro da gelatina refere-se à amida I e é decorrente do alongamento em C = O e da deformação de NH (ANVARI e CHUNG, 2016).

A amostra S8 apresentou um pico na região 1431 cm^{-1} , que pode indicar a presença de uma amida, confirmando a formação do complexo. Tal pico indica que a interação eletrostática entre os grupos amino ($-\text{NH}_3$) da molécula de gelatina e os grupos carboxílicos ($-\text{COO}^-$) da molécula de goma arábica resultou num complexo contendo amidas. Comunian et al. (2013) encontrou essa mesma banda amida na microencapsulação do AA por coacervação complexa utilizando a gelatina e a goma arábica como materiais de parede.

Os picos presentes na amostra S8 em 2900 cm^{-1} e 2830 cm^{-1} podem ser picos resultantes da molécula de goma arábica que não interagiram com a gelatina na formação do complexo, e por isso aparecem na amostra encapsulada.

Figura 2.15 - Espectros obtidos por FTIR da gelatina, goma arábica, AA puro e da amostra S8.



3.8 Perfil de liberação do ácido ascórbico

O estudo do perfil de liberação de um ingrediente ativo é importante para entender as taxas de liberação e o mecanismo pelo qual a liberação ocorre. Os testes realizados em condições específicas podem fornecer informações úteis, especialmente no que diz respeito à matriz alimentícia onde este material ativo pode ser incorporado. A amostra S8 foi escolhida para o estudo do perfil de liberação porque apresentou a melhor eficiência de encapsulação, o que significa que uma quantidade menor de composto ativo ficou aderido na superfície da microcápsula.

A Tabela 2.13 apresenta o perfil de liberação das microcápsulas de AA em diferentes valores de pH. De uma forma geral, a liberação do AA em valores de pH ácidos e básicos foi mais rápida do que em pH próximo à neutralidade. Estes resultados são importantes para avaliar a aplicação industrial do composto ativo microencapsulado.

As microcápsulas que permaneceram em contato com uma solução a pH 12,0 apresentaram a liberação mais rápida: cerca de 63% do AA foi liberado em 15 min. Em 90 min de análise, 94,69% do conteúdo de AA foi liberado em pH 1,1 e cerca de 82% no pH 2,2 e 12,0, uma liberação mais elevada quando comparada ao pH próximo da neutralidade, que foi cerca de 38%.

O efeito da alta liberação inicial do agente ativo é conhecido como "efeito burst" (LAKKIS, 2007; PRATA et al., 2008). Esta liberação rápida pode ser observada em diferentes métodos de encapsulação e materiais de parede, assim como para diferentes agentes ativos. Alvim e Grosso (2010) microencapsularam oleoresina de páprica por coacervação complexa e observaram uma liberação acentuada nos primeiros 15 minutos de análise. Yang et al. (2014) microencapsularam óleo de baunilha por coacervação complexa e também observaram o efeito de "burst".

O efeito de "burst" observado na amostra S8 pode ser atribuído à degradação do material de parede devido às condições extremas de pH, como 1,1, 2,2 e 12,0, uma vez que a alta EE obtida para esta amostra (cerca de 93%), indica uma baixa adesão de material ativo na superfície das microcápsulas. De acordo com a Comunian et al. (2016), as mudanças de pH do meio podem contribuir para a degradação das microcápsulas produzidas por coacervação complexa devido à alteração na solubilidade dos polímeros de parede.

Tabela 2.13 - Perfil de liberação de AA a partir das microcápsulas da amostra S8 em diferentes valores de pH (valores expressos em %).

Tempo (min)	pH					
	1,1	2,2	5,4	7,4	9,6	12
15	18 ^{Db} ± 3	21 ^{Cb} ± 3	24 ^{Db} ± 7	21 ^{Eb} ± 3	24 ^{Eb} ± 7	63 ^{Ca} ± 8
30	35 ^{Cbc} ± 6	22 ^{Cc} ± 4	42 ^{Cb} ± 4	27 ^{DEbc} ± 3	40 ^{DEb} ± 4	72 ^{BCa} ± 8
45	68 ^{Ba} ± 5	32 ^{Cb} ± 4	41 ^{Cb} ± 2	31 ^{DEb} ± 2	41 ^{DEb} ± 2	72 ^{BCa} ± 4
60	77 ^{Ba} ± 2	54 ^{Bb} ± 8	46 ^{Cbc} ± 3	33 ^{DEc} ± 5	43 ^{DEbc} ± 5	77 ^{BCa} ± 2
90	95 ^{Aa} ± 5	83 ^{Aa} ± 6	51 ^{BCb} ± 2	38 ^{CDEb} ± 2	44 ^{DEb} ± 6	82 ^{ABa} ± 6
120		98 ^{Aa} ± 3	52 ^{BCb} ± 5	44 ^{CDBb} ± 6	44 ^{Bb} ± 6	99 ^{Aa} ± 1
150			63 ^{Ba} ± 6	52 ^{BCa} ± 5	51 ^{Da} ± 6	
180			82 ^{Aa} ± 4	63 ^{Ba} ± 6	52 ^{CDBa} ± 4	
210			91 ^{Aa} ± 3	69 ^{Bb} ± 6	70 ^{BCb} ± 2	
240			97 ^{Aa} ± 2	89 ^{Aa} ± 2	84 ^{ABa} ± 7	
270				91 ^{Aa} ± 4	99 ^{Aa} ± 3	
300				96 ^{Aa} ± 3		

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna e letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si estatisticamente pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

As microcápsulas que permaneceram em contato com soluções de pH 5,4, 7,4 e 9,6 não apresentaram diferença significativa em seu perfil de liberação durante os 120 min de análise, porém houve uma liberação de aproximadamente 98% do AA microencapsulado nos pHs 2,2 e 12,0. Entre todos os pHs testados, as microcápsulas em contato com a solução de pH 7,4 apresentaram a liberação mais lenta: cerca de 96% de AA foram liberados após 300 min de análise.

A liberação de um composto ativo envolve algumas etapas, como a absorção do solvente pela cápsula, a dissolução da parede, a dissolução do núcleo, a permeação do núcleo pela parede e, finalmente, a difusão do núcleo pelo solvente (MATALANIS, JONES e MCCLEMENTS, 2011). Portanto, o material de parede determinará o mecanismo de liberação do composto ativo. Este mecanismo de liberação pode ser modulado pelo peso molecular do polímero. Polímeros com maior peso molecular apresentam uma liberação mais lenta dos compostos encapsulados (KUMARI, YADAV e YADAV, 2010). O estudo das características de liberação controlada de compostos bioativos como AA é de fundamental importância, especialmente quando esses encapsulados são adicionados às matrizes de alimentos. Os resultados obtidos demonstram que as microcápsulas de AA podem ser aplicadas em diferentes produtos alimentícios, dependendo da matriz onde serão inseridas e da velocidade de liberação do composto ativo que é esperada neste produto.

3.9 Modelagem matemática de liberação de AA

Os dados cinéticos de liberação de componentes ativos de microcápsulas geralmente exibem tendências exponenciais ou lineares. Na maioria dos casos, a lei da potência é observada em reações químicas e pode ser aplicada com sucesso tendo como resultado uma previsão satisfatória. Para este caso específico, a liberação de AA exibiu diferentes velocidades de liberação de acordo com o tempo e o pH de trabalho.

O conjunto de dados de liberação de AA não apresentou limitações em relação ao equilíbrio, ou seja, o componente ativo não exibiu linha de saturação ou equilíbrio abaixo de 1 (ou 100% de liberação): o pior cenário para todos os diferentes valores de pH foi de 95-99% de liberação. Devido a esta característica, o parâmetro C^∞ de todas as equações derivadas da lei da potência não foi utilizado para prever a concentração no equilíbrio, mas sim foi definido como unidade. Para os casos em que o equilíbrio é alcançado, este parâmetro não pode ser negligenciado na estimativa matemática.

Para descrever matematicamente a liberação de AA da amostra S8 em diferentes valores de pH, cinco modelos diferentes foram testados como preditores, conforme apresentado na seção Material e Métodos. Os modelos de lei da potência foram ajustados aos dados de liberação obtidos em todas as condições de pH testadas, enquanto que o modelo proposto (PM2) foi aplicado apenas para os ensaios em pH 5.4, 7.4 e 9.6, onde foi identificada uma liberação em dois passos (Figuras 2.15B e 2.16).

Como seis parâmetros são desconhecidos no modelo PM2, ele não pode ser aplicado diretamente na estimativa convencional de parâmetros. No entanto, uma abordagem em duas etapas foi usada com sucesso para adequar esse modelo aos dados experimentais, seguindo algumas condições: **i)** o experimentador deve escolher dentre todo o conjunto de dados apenas os dados que representam uma primeira "curva exponencial regular" e depois encaixá-los em PM1 usando suposições iniciais apropriadas para os três parâmetros; **ii)** usando todo o conjunto de dados, o modelo PM2 pode ser utilizado substituindo os parâmetros encontrados no passo **i** pelos parâmetros a , $w1$ e $k1$. Embora alguns desvios óbvios possam ocorrer na tentativa de encontrar os valores exatos de todos os parâmetros, esses erros foram considerados baixos e proporcionalmente comparáveis aos obtidos com base na lei da potência. Ao

evitar a necessidade de implementar algoritmos complexos no passo de estimativa de parâmetro, essa abordagem permitiu usar o mesmo método de otimização para as equações derivadas da lei de potência.

O modelo PM1 não foi usado para descrever todo o conjunto de dados, uma vez que se pretende prever curvas cinéticas "regulares" bem definidas, ou seja, a curva deve ter pontos de dados suficientes e sua forma deve ser exponencial ou sigmoideal, conforme verificado usando dados externos (dados não apresentados). Como este modelo não resultou em boas previsões para estes dados, ele foi utilizado apenas para prever parâmetros de PM2, como mencionado anteriormente.

As Tabelas 2.14, 2.15, 2.16, 2.17 e 2.18 apresentam os parâmetros cinéticos obtidos para cada modelo e os desvios associados. Analisando os parâmetros a e b do modelo PM2 nas Tabelas 2.15, 2.16 e 2.17, observa-se que houve um aumento significativo nos valores de b quando comparado com os valores do parâmetro a . Como a liberação do AA ocorreu em duas etapas nos valores de pH (5,4, 7,4 e 9,6), o parâmetro a possivelmente representa a liberação do AA presente na superfície da microcápsula. Já o parâmetro b pode estar relacionado com a liberação do AA microencapsulado, ou seja, ocorreu a degradação do material de parede e a expulsão do núcleo, o que explica o aumento em seu valor. Os valores de k foram menores na primeira etapa de liberação e mais elevados na segunda etapa, sendo que o pH 5,4 apresentou o maior valor de k_2 , seguido do pH 9,6 e 7,4. Maiores conclusões a respeito dos parâmetros envolvidos na representação matemática só seriam possíveis se em todos os casos o sistema atingisse o equilíbrio, ou seja, se houvesse dados suficientes onde se verificasse que dC/dt se aproxima de zero.

Uma tendência linear foi observada para os ensaios em meios com pH 1,1 e 2,2, como pode ser observado na Figura 2.15A e B, sendo que a equação da lei da taxa de ordem 0 apresentou a melhor previsão e o menor desvio. Foram observadas boas correlações para o modelo PM2, que apresentou R^2 maior que 0,99 em todos os casos em que foi aplicado. A equação da lei da taxa de 2ª ordem foi o modelo matemático que melhor descreveu os dados experimentais relacionados ao pH 12,0 (Figura 2.16). Embora a forma da curva demonstre uma possível liberação de dois passos, não houve dados suficientes para permitir uma aplicação adequada do modelo PM2.

Levando em consideração o melhor ajuste do modelo para diferentes pHs, foi possível obter boas correlações, conforme sugerido pelos valores de R^2 (0,94-0,99),

AARD (1,78-15,36%) e RMSE (0,02-0,09). O maior desvio relacionado ao pH 2,2 ocorreu devido a uma tendência similar à liberação de dois passos em 15-30 min, quando os dados se afastam de uma tendência linear, uma característica do modelo de zero ordem. O modelo PM2 não apresentou um ajuste adequado aos dados em pH 12,0 devido à escassez de pontos de dados experimentais na região de interesse.

Figura 2.15 – Perfil de liberação das microcápsulas da amostra S8 em (A) pH 1,1 (■) e 7,4 (◄) , (B) 2,2 (●) e 5,4 (▲), as linhas correspondem aos modelos que melhor descreveram os conjuntos de dados: ordem 0 (---), segunda ordem (····) e modelo proposto (—).

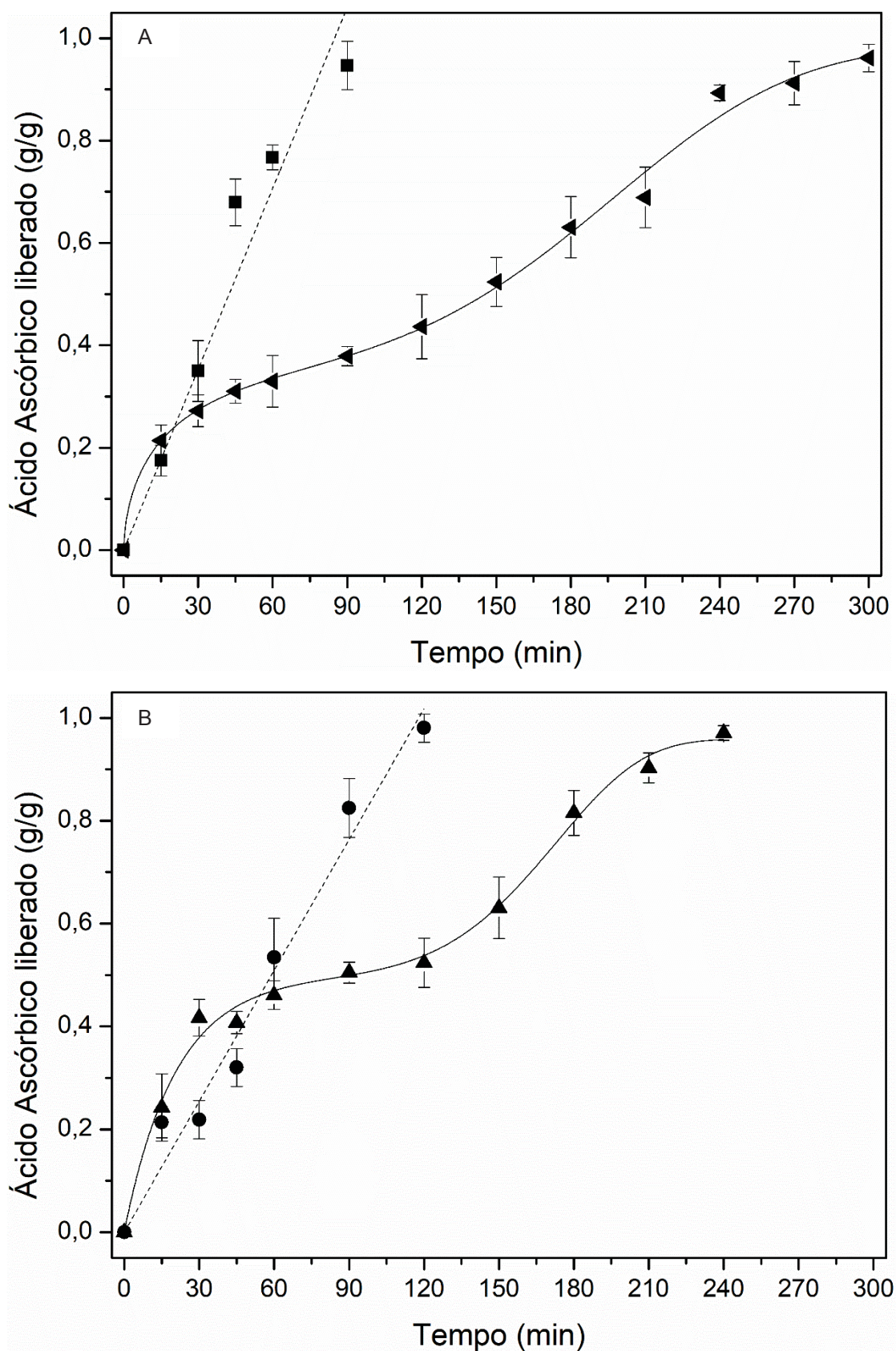


Figura 2.16 – Perfil de liberação das microcápsulas da amostra S8 em 9,6 (♦) e 12,0 (▶). as linhas correspondem aos modelos que melhor descreveram os conjuntos de dados: ordem 0 (----), segunda ordem (····) e modelo proposto (—).

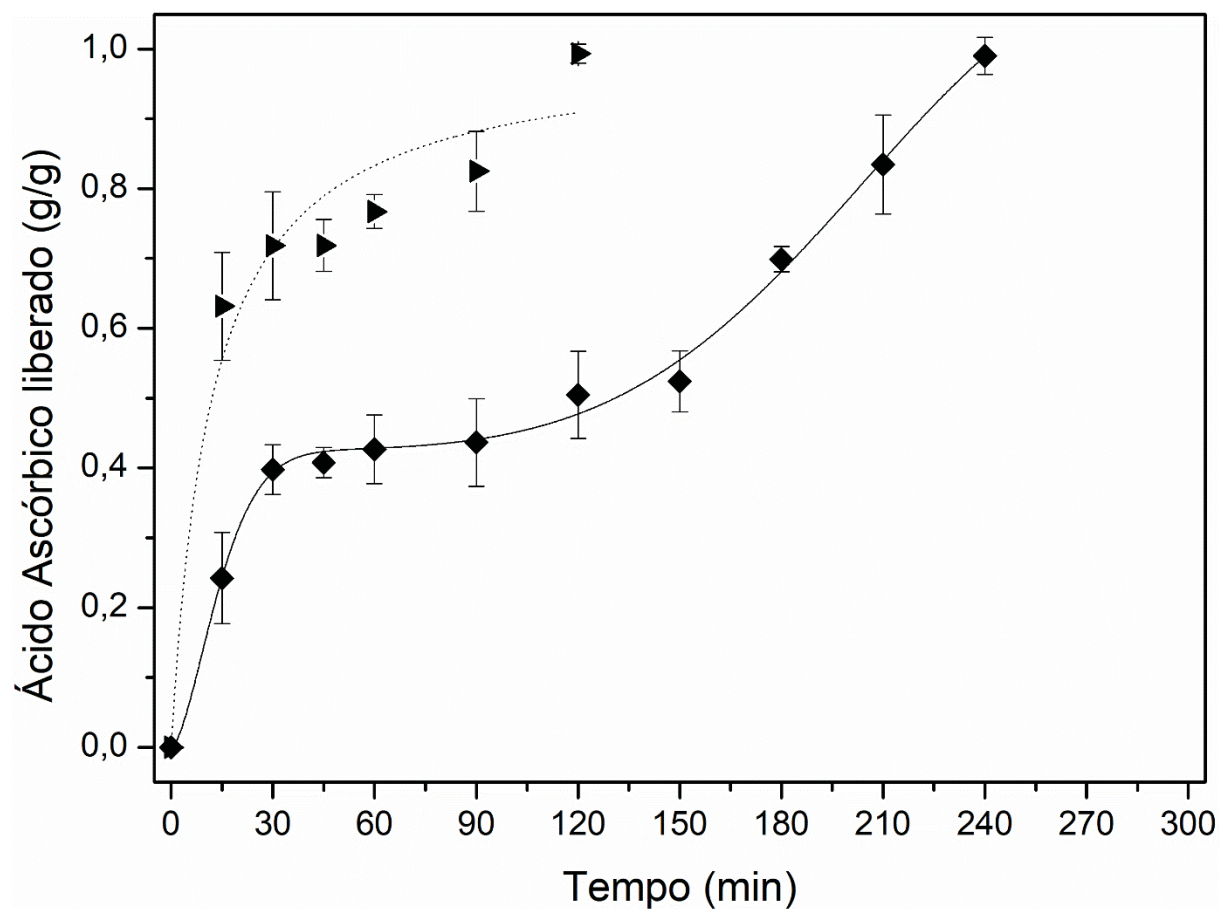


Tabela 2.14 – Ácido ascórbico liberado em meio com pH 1,1 e 2,2: parâmetros cinéticos e desvios calculados para a equação da lei da potência.

<i>Modelo</i>	<i>k</i>	<i>R</i> ²	<i>AARD (%)</i>	<i>RMSE</i>
pH 1,1				
Ordem zero	0,011 ± 0,001	0,943	8,76	0,09
1ª ordem	0,021 ± 0,003	0,942	23,33	0,09
2ª ordem	0,034 ± 0,010	0,85	36,22	0,14
pH 2,2				
Ordem zero	0,0085 ± 0,0003	0,98	15,36	0,06
1ª ordem	0,014 ± 0,002	0,90	25,09	0,11
2ª ordem	0,021 ± 0,006	0,80	32,20	0,16

Para todas as equações, C^∞ foi definido como 1 (liberação de 100%).

Tabela 2.15 – Ácido ascórbico liberado em meio com pH 5,4: parâmetros cinéticos e desvios calculados para a equação da lei da potência e para o modelo proposto (PM2).

Modelo	Parâmetros						R²	AARD (%)	RMSE
	k								
Ordem zero	0,0045 ± 0,0004						0,74	27,78	0,15
1ª ordem	0,0092 ± 0,0001						0,88	18,58	0,10
2ª ordem	0,0167 ± 0,0025						0,88	15,00	0,10
PM2	a	w₁	k₁	b	w₂	k₂	0,99	3,50	0,02
	0,50 ±	21,0 ±	1 ±	0,46	179	6 ± 1			
	0,05	4,5	0,3	±0,02	±5				

Para todas as equações, C[∞] foi definido como 1 (liberação de 100%).

Tabela 2.16 – Ácido ascórbico liberado em meio com pH 7,4: parâmetros cinéticos e desvios calculados para a equação da lei da potência e para o modelo proposto (PM2).

Modelo	Parâmetros						R ²	AARD (%)	RMSE
	k								
Ordem zero	0,0035 ± 0,0002						0,90	22,44	0,10
1ª ordem	0,0065 ± 0,0006						0,91	23,33	0,09
2ª ordem	0,011 ± 0,002						0,86	17,73	0,11
PM2	a	w ₁	k ₁	b	w ₂	k ₂	0.994	1,78	0,02
	0,4050	24,4 ±	0,59 ±	0,58 ±	216 ±	3,8 ±			
	± 0,03	6,1	0,07	0,034	8	0,4			

Para todas as equações, C[∞] foi definido como 1 (liberação de 100%).

Tabela 2.17 – Ácido ascórbico liberado em meio com pH 9,6: parâmetros cinéticos e desvios calculados para a equação da lei da potência e para o modelo proposto (PM2).

Modelo	Parâmetros						R ²	AARD (%)	RMSE
	k								
Ordem zero	0,0042 ± 0,0003						0,72	28,59	0,14
1ª ordem	0,008± 0,001						0,82	23,54	0,12
2ª ordem	0,014 ± 0,003						0,83	18,21	0,11
PM2	a	w ₁	k ₁	b	w ₂	k ₂	0,996	2,13	0,02
	0,43 ±	16,7 ±	1,61 ±	0,71 ±	217 ±	4,4 ±			
	0,01	1	0,23	0,13	17	0,5			

Para todas as equações, C[∞] foi definido como 1 (liberação de 100%).

Tabela 2.18 – Ácido ascórbico liberado em meio com pH 12,0: parâmetros cinéticos e desvios calculados para a equação da lei da potência.

Modelo	<i>k</i>	<i>R</i>²	AARD (%)	RMSE
Ordem zero	0,0104 ± 0,002	0,07	37,40	0,30
1ª ordem	0,04 ± 0,01	0,85	14,19	0,12
2ª ordem	0,08 ± 0,01	0,96	7,76	0,07

Para todas as equações, C^∞ foi definido como 1 (liberação de 100%).

4 CONCLUSÃO

As microcápsulas de AA produzidas por coacervação complexa utilizando gelatina e goma arábica como materiais de parede apresentaram resultados satisfatórios de eficiência de encapsulação, sendo que a concentração do material de parede e a proporção do núcleo influenciaram fortemente os resultados. A solubilidade e a higroscopicidade foram baixas e a estabilidade térmica do material ativo melhorou drasticamente com o processo de microencapsulação. Uma liberação mais lenta de AA foi obtida em pHs próximos à neutralidade. O modelo matemático de ordem 0 foi o que melhor se ajustou aos dados dos pHs 1,1 e 2,2, o modelo de 2ª ordem forneceu o melhor ajuste para o pH 12 e o modelo proposto (PM2) apresentou um ajuste adequado dos dados em pHs 5,4, 7,4 e 9,6. Os modelos matemáticos aplicados mostraram excelentes previsões da taxa de liberação, descrevendo a liberação de AA das microcápsulas em diferentes pHs. Estes resultados, juntamente com o pequeno diâmetro médio, tornaram o AA microencapsulado termoestável e adequado para a aplicação na indústria de alimentos, especialmente quando tratamentos térmicos estão envolvidos, como na produção de produtos cárneos emulsionados.

CAPÍTULO 3

Ácido ascórbico microencapsulado: desenvolvimento, caracterização e perfil de liberação em fluidos gastrointestinais simulados

Parte deste capítulo foi publicado na revista Journal of Food Process Engineering
(Anexo II)

Ácido ascórbico microencapsulado: desenvolvimento, caracterização e perfil de liberação em fluidos gastrointestinais simulados

RESUMO

O objetivo deste capítulo foi produzir microcápsulas de ácido ascórbico (AA) por coacervação complexa, caracteriza-las e avaliar o perfil de liberação em fluidos gastrointestinais simulados. A gelatina e a pectina foram utilizadas como materiais de parede em concentrações de 1,0, 2,0 e 3,0 g/100 mL. As microcápsulas coacervadas foram liofilizadas e avaliadas quanto à morfologia (por microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura), atividade de água (A_w), higroscopicidade, solubilidade, eficiência de encapsulação, comportamento térmico e perfil de liberação de AA em fluidos que simulam o ambiente gastrointestinal. As microcápsulas AA apresentaram baixa solubilidade em água, baixa higroscopicidade e um diâmetro médio abaixo de 10 μm . A eficiência de encapsulação (EE) variou de 24 a 94%. O perfil de liberação foi mais pronunciado em fluido gástrico (pH 1,8) e mais lento em fluido intestinal (pH 6,8). A amostra contendo 2,0 g/100 mL de material de parede e 50% (m/m) da emulsão simples (núcleo) apresentou a maior EE, uma liberação de 69% de AA em 120 min na presença de fluido gástrico, e uma liberação gradual e completa (98%) em fluido intestinal. A coacervação complexa provou ser um método adequado para encapsular AA nos materiais de parede selecionados, aumentando a estabilidade térmica do agente ativo e facilitando sua incorporação em matrizes alimentícias.

Palavras-chave: Coacervação complexa, microencapsulação, vitamina C, pectina, gelatina, liofilização.

1 INTRODUÇÃO

O ácido ascórbico é um composto bioativo conhecido pelos seus benefícios à saúde, pois é fonte de vitamina C. Além da função nutricional, o AA é utilizado como antioxidante em produtos cárneos e em vegetais e frutas frescas com o objetivo de diminuir o escurecimento enzimático (ABBAS et al., 2012; DAMODARAN, PARKIN e

FENNEMA, 2010). Porém, este aditivo é altamente instável e reativo, sofre rápida degradação quando exposto a variações de temperatura e pH, presença de luz, concentrações elevadas de oxigênio e alta atividade de água (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010). Devido a esta alta instabilidade, a incorporação do AA em matrizes alimentícias não é uma tarefa fácil. Por isso, as indústrias de alimentos vêm buscando alternativas para solucionar estes problemas e o processo de microencapsulação tem sido uma das alternativas para aumentar a estabilidade destes compostos sensíveis, assim como controlar a liberação do composto ativo (ABBAS et al., 2012; DIAS, FERREIRA e BARREIRO, 2015).

A microencapsulação é definida como um processo no qual o material ativo é cercado por um revestimento (parede), formando pequenas cápsulas que têm por objetivo proteger o material encapsulado das condições adversas do meio, como luz, calor, umidade, oxigênio, interação com outros compostos. Desta maneira, a estabilidade do composto ativo é aumentada, mantendo-o viável ao longo do processamento e armazenamento (ABBAS et al., 2012; DESAI, LIU e PARK, 2006; GHARSALLAOUI et al., 2007; GIBBS et al., 1999; SHAHIDI e HAN, 1993).

Neste contexto, diferentes métodos de microencapsulação têm sido estudados para melhorar a estabilidade do AA, dentre os quais estão o *spray chilling* (De Matos-Jr et al., 2017; Matos-Jr et al., 2015; Sartori et al., 2015), o *spray drying* (Alvim et al., 2016; Desai e Park, 2005), a técnica microfluídica (Comunian et al., 2014; Comunian et al., 2017), a evaporação por solvente (Uddin, Hawlader e Zhu, 2001) e a coacervação complexa (Comunian et al., 2013).

A microencapsulação por coacervação está entre os métodos utilizados para encapsular compostos sensíveis e instáveis, pois produz uma cápsula verdadeira, protegendo completamente o material ativo dentro do material da parede (Dong et al., 2011; Nori et al., 2011). A coacervação complexa é a separação de fases de um ou vários hidrocoloides da solução inicial com a posterior deposição da fase coacervada em torno do ingrediente ativo suspenso ou emulsionado no mesmo meio de reação (DE KRUIF, WEINBRECK e DE VRIES, 2004; EGHBAL e CHOUDHARY, 2018; GOUIN, 2004)

A coacervação complexa pode ser utilizada para a formação de filmes para embalagens e produção de emulsões ou géis alimentares. Os coacervados formados também são utilizados como aditivos, agentes emulsionantes e modificadores de viscosidade na indústria de alimentos (EGHBAL e CHOUDHARY, 2018; SING, 2017).

Além disso, as microcápsulas produzidas por coacervação complexa são resistentes a altas temperaturas e possuem boas características para liberação controlada (DONG et al., 2011; EGHBAL e CHOUDHARY, 2018).

A liberação controlada de compostos bioativos garante a manutenção das características nutritivas e sensoriais dos alimentos e permite o prolongamento do período de armazenamento. Os mecanismos de liberação dependem de muitos fatores, tais como: o material de parede, a substância que será encapsulada, a proporção do material de parede e do núcleo, a geometria e a morfologia da microcápsula, e as condições de liberação (solvente, pH, força iônica, temperatura) (DONG et al., 2011; EGHBAL e CHOUDHARY, 2018; MADERUELO, ZARZUELO e LANA O, 2011; MOSCHAKIS e BILIADERIS, 2017).

A maioria dos estudos com microencapsulação por coacervação complexa envolve agentes hidrofóbicos como no estudo realizado por Dong et al. (2011) com óleo de menta e por Rutz et al. (2017) com óleo de palma. No entanto, agentes ativos hidrofílicos, como o AA, não podem ser encapsulados diretamente por coacervação complexa, exigindo uma etapa de emulsificação do agente ativo em óleo, como no estudo realizado por Comunian et al. (2013) na encapsulação do AA, por Rocha-Selmi et al. (2013b) na encapsulação da sucralose e por Santos et al. (2015) na encapsulação do xilitol. Existem apenas alguns estudos envolvendo a liberação de compostos hidrofílicos, como o AA em fluidos gástrico e intestinal simulados. Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar a liberação *in vitro* de AA microencapsulado em fluidos gástricos e intestinais simulados, bem como analisar as características morfológicas, físico-químicas e térmicas das microcápsulas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAIS

A gelatina bovina tipo B (Gelita South América, Mococa, Brasil) e a pectina cítrica (Vetec-Sigma Aldrich, St. Louis, Brasil) foram utilizadas como materiais de parede e o ácido ascórbico (AA) com 99,9 % de pureza (Biotec, Pinhais, Brasil) foi utilizado como núcleo. Para o preparo da emulsão simples foi utilizado o óleo de milho (Cargill, Mairinque, Brasil) e o emulsificante poliricinoleato de poliglicerol (PGPR 90) (SGS Agricultura e Industria Ltda, Ponta Grossa, Brasil).

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Determinação do pH de coacervação

A determinação do pH de coacervação foi realizada conforme descrito no item 2.2.1 do Capítulo 2. Os valores de pH selecionados para o par polimérico gelatina:pectina foram 3,5; 4,0; 4,2; 4,3; 4,4; 4,5 e 5,0.

2.2.2 Preparação das microcápsulas

As microcápsulas foram preparadas seguindo a metodologia descrita por Comunian et al. (2013) com algumas modificações. Um planejamento fatorial completo 3^2 foi realizado para selecionar os efeitos da concentração dos materiais de parede (gelatina e pectina) e da proporção do núcleo (AA) na eficiência de encapsulação, conforme descrito na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 – Planejamento experimental.

Variável	Nível		
	-1	0	+1
Concentração do material de parede* (g/100 mL)	1,0	2,0	3,0
Proporção do núcleo (%)**	25	50	75

*A proporção de gelatina:pectina (m/v) foi fixada em 1:1.

**Porcentagem de emulsão simples (núcleo) em relação à concentração total dos polímeros (m/m).

A Tabela 3.2 apresenta a combinação dos níveis e variáveis utilizados no planejamento fatorial completo 3^2 acoplado à superfície de resposta, totalizando 9 ensaios, avaliados em triplicata.

Tabela 3.2 - Variáveis e níveis utilizados no planejamento experimental completo 3².

Níveis		Concentração material de parede g/100 mL*	Proporção do núcleo (%)**
0	+1	2,0	75
+1	0	3,0	50
-1	-1	1,0	25
-1	0	1,0	50
+1	+1	3,0	75
0	-1	2,0	25
+1	-1	3,0	25
-1	+1	1,0	75
0	0	2,0	50

*A proporção de gelatina:pectina (m/v) foi fixada em 1:1.

**Porcentagem de emulsão simples (núcleo) em relação à concentração total dos polímeros (m/m).

Para a preparação das microcápsulas primeiramente foram preparadas separadamente 100 mL de uma solução de gelatina e 100 mL de uma solução de pectina com concentrações de 1,0, 2,0 e 3,0 g/100 mL sob aquecimento a 45 ± 2 °C. Estas soluções permaneceram sob agitação magnética até completa dissolução. O pH de cada solução foi ajustado para 7,5 com a adição de NaOH 1 mol.L⁻¹.

A emulsão simples (A/O) foi preparada utilizando uma solução de AA com concentração de 30% (m/v), óleo de milho (m/v) em proporções de 1:1 (m/v) (fase aquosa/fase oleosa) e o emulsificante lipofílico PGPR 90 com concentração de 0,8% (m/m) em relação à massa total da emulsão. A mistura foi levada ao Ultra-turrax com velocidade de 22000 rpm durante 4 min (RODRIGUES DA CRUZ et al., 2019). Esta emulsão simples foi considerada como núcleo.

Em seguida a emulsão simples (núcleo) foi adicionada lentamente a 100 mL de solução aquosa de gelatina com concentrações de 1,0, 2,0 e 3,0 g/100 mL a 45 ± 2 °C para a formação da emulsão dupla (A/O/A). A emulsificação foi realizada em homogeneizador Ultra-turrax a uma velocidade de 14.000 rpm durante 3 min. O pH foi ajustado novamente para 7,5 com NaOH 1 mol.L⁻¹.

A emulsão dupla foi adicionada lentamente a uma solução de pectina com concentrações de 1,0, 2,0 e 3,0 g/100 mL a 45 ± 2 °C sob agitação magnética durante 5 min. Em seguida, água destilada foi adicionada ao sistema (o dobro do volume do sistema). Para promover a coacervação complexa foi feita a redução lenta do pH da emulsão para 3,0 mediante a adição de HCl 0,1 mol.L⁻¹. A mistura foi resfriada lentamente até aproximadamente 10 ± 2 °C em banho de gelo e o material coacervado foi mantido sob refrigeração a 7 °C por 24 h para a separação das fases.

Após 24 horas, a água foi descartada e as amostras foram centrifugadas (Excelsa II, Fanem, Brasil) a 1450 g durante 15 min, armazenadas em frascos

recobertos com papel alumínio, congeladas em freezer (-18 °C) por 24 h e desidratadas por sublimação em liofilizador (Liobras, Liotop modelo L101) a uma temperatura de -52 °C durante 48 h. Após o processo de liofilização, as amostras foram trituradas e acondicionadas em frascos de vidro revestidos com papel alumínio e armazenadas em um dessecador a temperatura ambiente.

2.2.3 Caracterização das microcápsulas

A caracterização das microcápsulas foi realizada conforme descrito no item 2.2.5 do Capítulo 2.

2.2.4 Cor instrumental, estabilidade das microcápsulas, análise térmica e espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier

As análises de cor, estabilidade, análise térmica e espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier seguiram a mesma metodologia descrita na seção de métodos do Capítulo 2.

2.2.5 Perfil de liberação em fluidos gástrico e intestinal simulados

O perfil de liberação das microcápsulas AA foi avaliado por meio de um ensaio “*in vitro*” simulando condições gástricas e intestinais seguindo o procedimento descrito por Gbassi et al. (2009) e Wang et al. (2015), com algumas modificações, conforme apresentado na Figura 3.1. Foram pesadas 0,1 g das microcápsulas de cada formulação em triplicata, as quais foram adicionadas a 20 mL de fluido gástrico simulado (conforme Quadro 3.1). As amostras foram incubadas em banho maria com agitação a uma temperatura de 37 °C. Foram retiradas alíquotas de 1 mL de cada amostra nos tempos 0, 30, 60 e 120 min. Estas amostras foram centrifugadas (Excelsa II, Fanem, Brasil) a 1790 g durante 5 min e o sobrenadante foi utilizado para determinar a quantidade de AA de acordo com a metodologia da AOAC 967.21 (2010), modificada por Benassi e Antunes (1988).

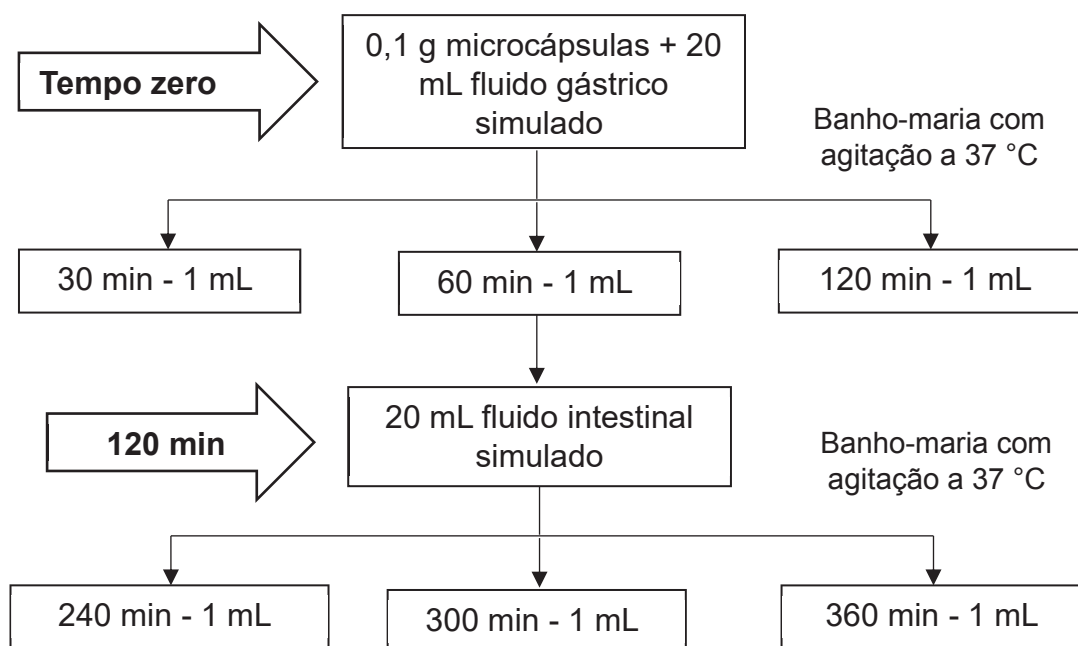
Após a retirada das alíquotas no intervalo de 120 min, foram adicionados ao meio 20 mL de fluido intestinal simulado (Quadro 3.1), o qual foi incubado em banho maria com agitação a 37 °C. Durante este período, retirou-se 1 mL de cada amostra

nos tempos 240, 300 e 360 min. Em seguida as amostras foram centrifugadas a 1450 g durante 5 min e o sobrenadante foi utilizado para a determinação da quantidade de AA de acordo com a metodologia da AOAC 967.21 (2010), modificada por Benassi e Antunes (1988). A quantidade de amostra retirada para as análises em cada intervalo de tempo foi substituída pela mesma quantidade das respectivas soluções para que o volume sempre permanecesse o mesmo durante toda a análise.

Quadro 3.1 – Formulação dos fluidos gástrico e intestinal utilizados no estudo de liberação.

Fluido gástrico	Fluido intestinal
pH 1,8	pH 6,8
NaCl – 9 g.L ⁻¹	NaCl – 9 g.L ⁻¹
Pepsina – 3 g.L ⁻¹	Pancreatina – 10 g.L ⁻¹
	Sais biliares – 3 g.L ⁻¹

Figura 3.1 – Avaliação do perfil de liberação em fluidos gástrico e intestinais simulados.



2.2.6 Análise de dados

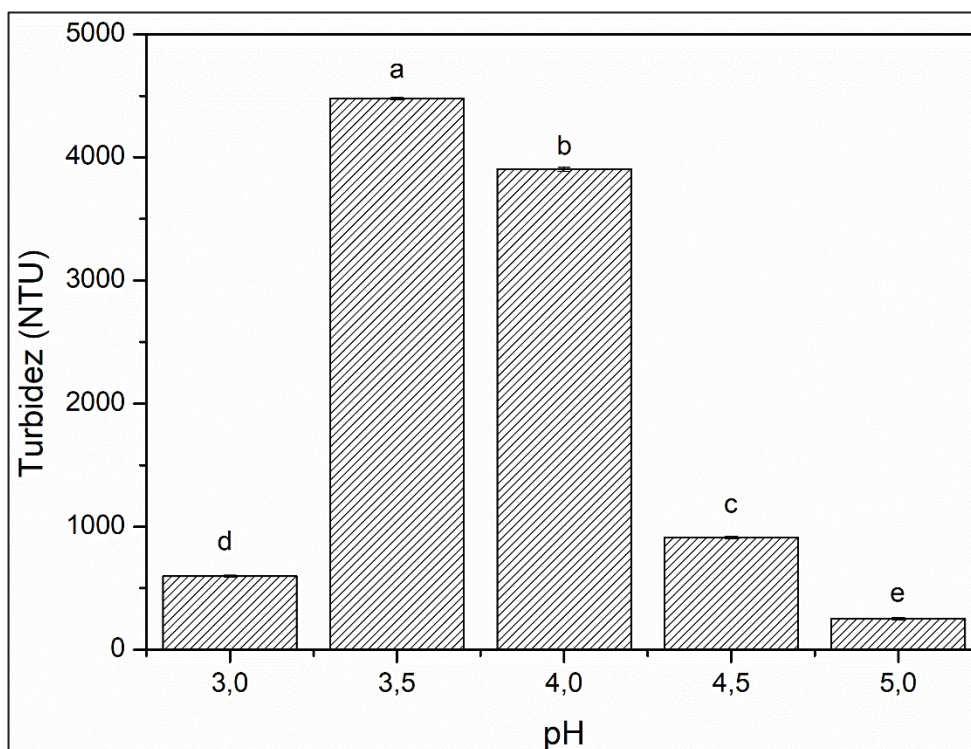
Os resultados obtidos nas determinações analíticas foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Quando os resultados apresentaram diferenças significativas entre as médias, foram comparados pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de significância ($p \leq 0,05$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Determinação do pH de coacervação

A Figura 3.2 apresenta as mudanças de turbidez na solução polimérica em função do ajuste de pH. Todos os pHs escolhidos para a análise apresentaram diferença significativa, sendo que o pH 3,5 resultou na maior interação entre as cargas dos polímeros. Isto significa que foi neste pH que houve o equilíbrio das cargas entre a gelatina e da pectina, conseqüentemente um aumento na turbidez da solução. Nos pHs 4,5 e 5,0 foi observada uma redução acentuada na turbidez da solução, assim como no pH 3,0.

Figura 3.2 – Efeito do pH na mudança de turbidez para a mistura do par polimérico gelatina:pectina na proporção de 1:1 (v/v).



A determinação do pH de coacervação visa obter uma rápida estimativa da faixa de separação de fases e a determinação do pH ótimo de interação entre os polímeros utilizados como materiais de parede. O processo de separação de fases é caracterizado pela turbidez, sendo o aumento da turbidez um indicativo de maior interação eletrostática de todas as possíveis cargas negativas e positivas dos biopolímeros (EGHBAL e CHOUDHARY, 2018, THIES, 1995).

3.2 Caracterização das microcápsulas

3.2.1 Eficiência de encapsulação (EE), diâmetro médio, umidade, atividade de água (A_w), solubilidade e higroscopicidade

A Tabela 3.3 apresenta os resultados da eficiência de encapsulação, diâmetro médio, umidade, atividade de água, solubilidade e higroscopicidade para as microcápsulas de AA produzidas por coacervação complexa após o processo de liofilização.

A eficiência de encapsulação é um parâmetro importante na avaliação de um processo de microencapsulação, especialmente quando a substância a ser encapsulada é hidrofílica. Geralmente, substâncias hidrofílicas (como AA) não podem ser microencapsuladas diretamente por coacervação complexa, pois requerem a adição de uma etapa de emulsificação (emulsão do tipo óleo em água), que é considerada como núcleo no processo de microencapsulação. Este passo adicional no processo de coacervação foi realizado neste estudo e nos trabalhos desenvolvidos por Comunian et al. (2013) na microencapsulação do AA, por Rocha-selmi et al. (2013b) na microencapsulação da sucralose, por Rocha-Selmi et al. (2013a) na microencapsulação do aspartame e por Santos et al. (2015) na microencapsulação do xilitol.

A EE variou de 24 a 94%, sendo que a amostra S1 apresentou a menor EE (24%) (Tabela 3.3). Uma EE baixa confirma a hipótese de que a concentração do material de parede (pectina+gelatina) não foi suficiente para permitir a encapsulação de todo o núcleo, resultando em uma alta concentração de núcleo exposto na superfície da microcápsula.

Tabela 3.3 - Propriedades físico-químicas das microcápsulas de AA produzidas por coacervação complexa.

Amostras	Concentração material de parede (g/100 mL)	Proporção do núcleo (%)	EE (%)	Diâmetro médio (µm)	Umidade (%)	A _w	Solubilidade (%)	Higroscopicidade (g/100g)
S1	1,0	25	24 ^e ± 3	7 ^{cd} ± 2	8 ^b ± 1	0,248 ^c ± 0,008	11 ^c ± 1	13,5 ^{bc} ± 0,3
S2	1,0	50	77 ^b ± 3	7 ^{bcd} ± 3	6,1 ^{cd} ± 1	0,227 ^{cd} ± 0,005	8,2 ^c ± 0,2	14,9 ^{abc} ± 0,2
S3	1,0	75	35 ^d ± 3	8 ^{bc} ± 2	6,2 ^{cd} ± 0,5	0,232 ^{cd} ± 0,005	13 ^c ± 1	14,0 ^{abc} ± 1,2
S4	2,0	25	55 ^c ± 2	6 ^{cd} ± 3	13,7 ^a ± 1,1	0,544 ^a ± 0,012	13,6 ^c ± 0,4	13,8 ^{abc} ± 0,2
S5	2,0	50	94 ^a ± 1	8 ^{bc} ± 4	13 ^a ± 1	0,371 ^b ± 0,04	11,6 ^c ± 0,4	12,5 ^c ± 0,4
S6	2,0	75	81 ^b ± 1	8 ^{ab} ± 3	6,3 ^{cd} ± 0,3	0,220 ^d ± 0,015	14,2 ^c ± 0,3	15 ^{abc} ± 1
S7	3,0	25	51 ^c ± 3	6 ^d ± 3	5,6 ^d ± 0,3	0,178 ^{e±} 0,010	19 ^{bc} ± 2	15,5 ^{ab} ± 0,2
S8	3,0	50	35 ^d ± 3	7 ^{cd} ± 2	5,1 ^d ± 0,5	0,143 ^f ± 0,06	27 ^{ab} ± 6	15,1 ^{abc} ± 1
S9	3,0	75	52 ^c ± 3	9 ^a ± 4	7,3 ^{bc} ± 0,5	0,251 ^c ± 0,08	36 ^a ± 6	16,5 ^a ± 0,5

Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si estatisticamente pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

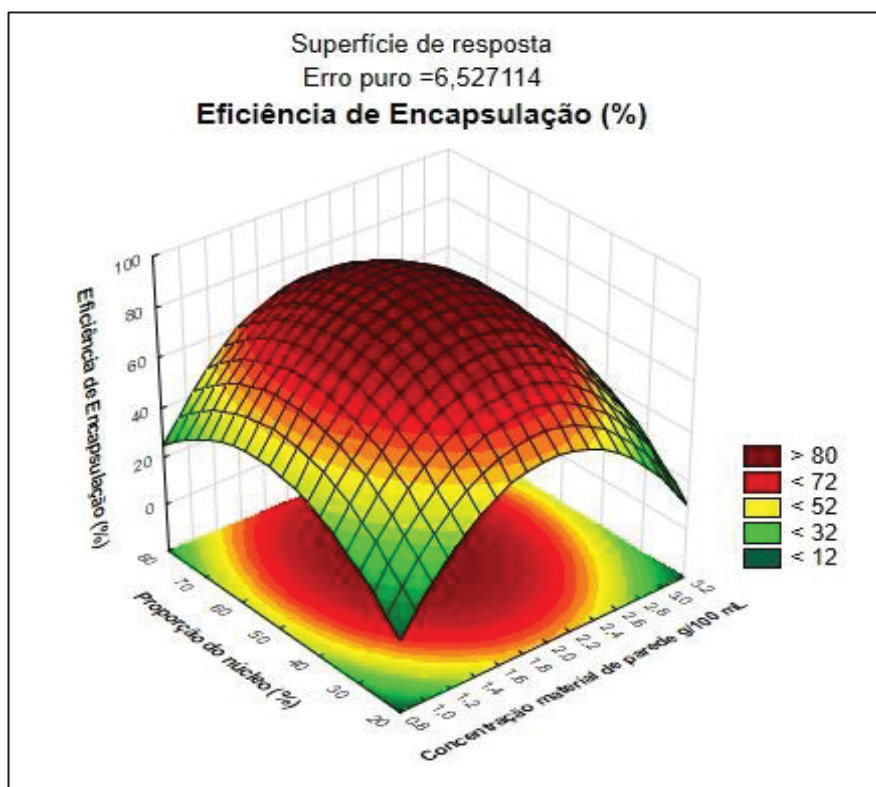
As amostras S3 (35%) e S8 (35%) não apresentaram diferença significativa entre si; estas amostras foram preparadas com diferentes concentrações de material de parede e proporções de núcleo:parede. O mesmo comportamento foi observado nas amostras S4 (55%), S7 (51%) e S9 (52%), indicando que tanto a concentração do material de parede quanto a proporção de núcleo influenciaram na EE. A EE mais elevada foi encontrada para a amostra S5 (94%), seguida da amostra S6 (81%), ambas produzidas com 2 g/100 mL de material de parede.

A maioria dos estudos envolvendo microencapsulação de compostos bioativos resulta em valores elevados de EE mediante um aumento na concentração dos polímeros usados como material de parede. Neste estudo, observou-se um aumento da EE quando a concentração do material de parede subiu de 1 g/100 mL para 2 g/100 mL, porém esse comportamento não foi observado quando a concentração do material de parede aumentou para 3 g/100 mL. Isso indica que concentrações de material de parede acima de 2 g/100 mL não necessariamente resultam em maiores interações entre os polímeros de parede, e podem de fato resultar em menor EE.

A Figura 3.3 apresenta a superfície de resposta para os efeitos da concentração do material de parede e da proporção do núcleo na eficiência de encapsulação. Este gráfico confirma as conclusões de que a melhor condição para a encapsulação do AA foi a de 2,0 g% de material de parede e 50% de núcleo (amostra S5). Por exibir a melhor EE, a amostra S5 foi avaliada quanto à morfologia, comportamento térmico, FTIR e liberação nos fluidos gástrico e intestinal simulados.

Nori et al. (2011) microencapsularam extrato de própolis por coacervação complexa utilizando proteína de soja isolada e pectina como agentes encapsulantes. A EE passou de 72,01% para 66,12% quando a concentração do material de parede aumentou de 2,5 g/100 mL para 5,0 g/100 mL. Os autores concluíram que o aumento da concentração de material de parede em relação ao núcleo não aumentou a EE, o mesmo comportamento observado neste estudo. De Souza et al. (2018) microencapsularam extrato de canela por coacervação complexa e obtiveram uma EE de 85% usando a gelatina e a pectina como materiais de parede. Já García-Saldaña et al. (2016) utilizaram a gelatina e a pectina para microencapsular sulforafano a partir de sementes de brócolis por coacervação complexa e obtiveram cerca de 18% de EE, valor menor do que a EE obtida neste trabalho com os mesmos materiais de parede.

Figura 3.3 - Superfície de resposta para os efeitos da concentração do material de parede e proporção do núcleo na eficiência de encapsulação.



O diâmetro médio variou de 6 a 9 μm e está diretamente relacionado com a proporção do núcleo: um aumento na proporção do núcleo resultou em microcápsulas com maior diâmetro médio. As amostras S7 (6 μm) e S9 (9 μm) apresentaram o menor e o maior diâmetro médio, respectivamente.

De Souza et al. (2018) encontraram um diâmetro médio de 116 μm na microencapsulação do extrato de canela por coacervação complexa utilizando os mesmos materiais de parede que neste estudo. Em outro estudo realizado por Saravanan e Rao (2010) foram encontrados diâmetros médios de 45, 94,6 e 120,9 μm para as microcápsulas de cloridrato de metronidazol, diclofenaco de sódio e indometacina, respectivamente, obtidas por coacervação complexa e utilizando gelatina e pectina como materiais de parede.

De acordo com Favaro-Trindade et al. (2008), o diâmetro médio das partículas produzidas pelo processo de coacervação complexa pode variar de 1 a 500 μm . Além dos fatores já mencionados, outros fatores também podem interferir no diâmetro médio das partículas como a velocidade e tempo de homogeneização, as condições

aplicadas no processo, o método de microencapsulação e principalmente diferentes materiais de parede.

A umidade das microcápsulas de AA liofilizadas variou de 5,1% a 13,7%. Observa-se que as amostras S4 (13,7%) e S5 (13%) apresentaram os valores mais elevados de umidade. As amostras S2 (6,1%), S3 (6,2%) e S6 (6,3%) não apresentaram diferença significativa entre si e o mesmo comportamento foi observado para as amostras S1 (7,9%) e S9 (7,3%). O menor teor de umidade foi encontrado para as amostras S7 e S8 (5,6 e 5,1%, respectivamente), que apresentaram a menor A_w , conforme esperado em produtos liofilizados (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010).

A solubilidade em água das microcápsulas liofilizadas variou de 8,2 a 36%. As amostras S7 (19%), S8 (27%) e S9 (36%) apresentaram maior solubilidade em água. Como essas amostras foram preparadas com uma concentração de polímeros de parede de 3,0 g/100 mL, esse aumento de concentração pode ser o responsável pelo aumento da solubilidade. A amostra S8 apresentou uma EE baixa (35%), o que pode explicar a alta solubilidade, uma vez que o material que não foi encapsulado permaneceu na superfície da microcápsula e foi solubilizado em água mais rapidamente. Rocha-Selmi et al. (2013a) observaram o mesmo comportamento (isto é, alta solubilidade e baixa EE) em algumas amostras quando encapsularam o aspartame por coacervação complexa. As amostras restantes apresentaram solubilidade relativamente baixa, o que é esperado no caso de microcápsulas produzidas por coacervação complexa.

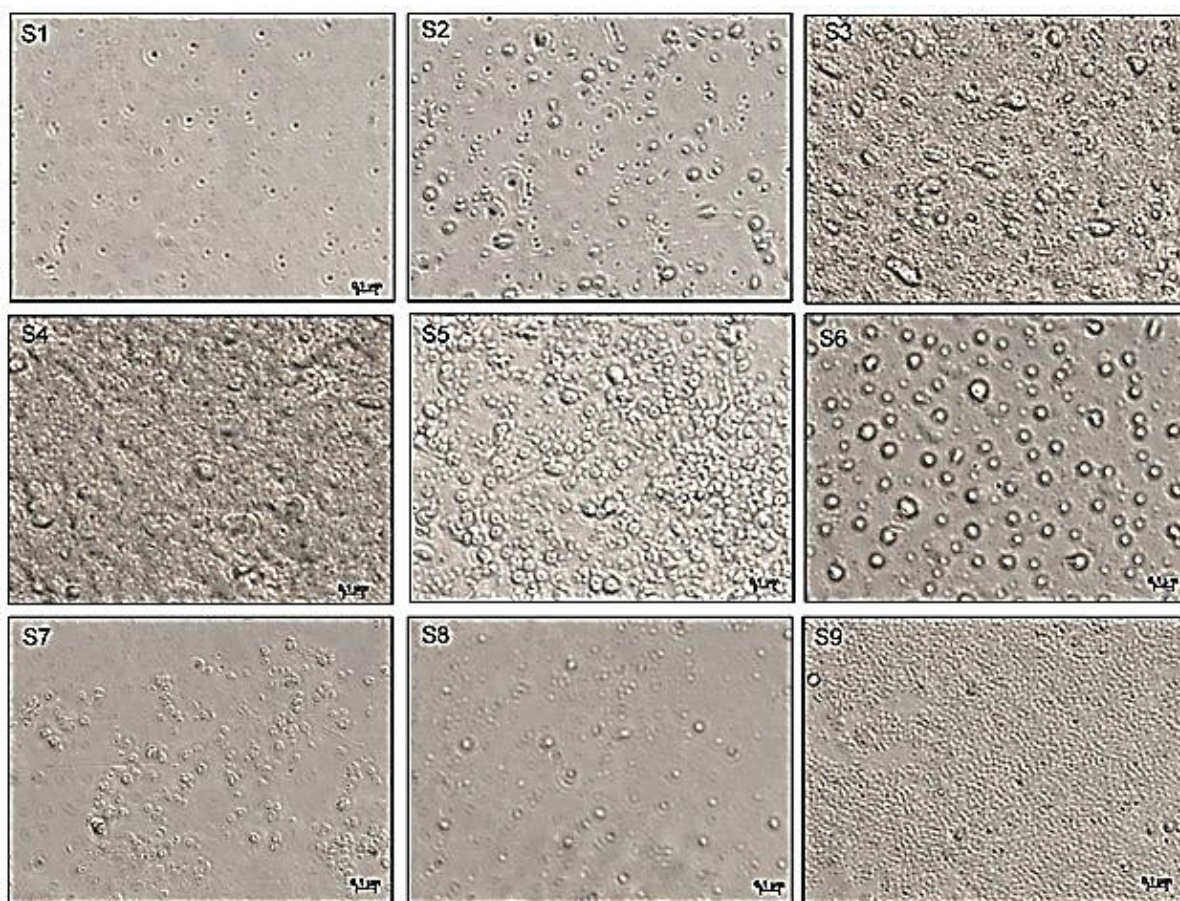
A higroscopicidade variou de 12,5 a 16,5%. A amostra S9 (16,5%) apresentou a maior higroscopicidade, bem como a maior solubilidade e o maior diâmetro médio. O comportamento para a higroscopicidade foi semelhante ao da solubilidade, isto é, amostras com maior concentração de material de parede apresentaram maior higroscopicidade. A amostra S5, além de apresentar a EE mais alta (94,3%), apresentou também a menor higroscopicidade, 12,5%, indicando que a higroscopicidade e a solubilidade estão diretamente relacionadas à EE.

Nos estudos realizados por Mendanha et al. (2009), Nori et al. (2011) e Silva et al. (2012) foram encontrados valores de higroscopicidade maiores do que neste estudo para a microencapsulação da caseína hidrolisada (20,08 a 26,0 g/100 g), extrato de própolis (34,46 a 34,10 g/100 g) e licopeno (33,4 a 36,8 g/100 g).

3.2.2 Morfologia

A Figura 3.4 apresenta a microscopia ótica das microcápsulas de AA após o processo de coacervação e antes do processo de liofilização para todos os tratamentos realizados. As microcápsulas apresentaram características morfológicas semelhantes, com formato arredondado e mononucleadas. As diferenças de tamanho são devido às diferentes concentrações de material de parede e proporção de núcleo utilizadas na produção das microcápsulas.

Figura 3.4 – Microscopia ótica das microcápsulas de AA antes do processo de liofilização com aumento de 1000X.



*A concentração de GE:PEC foi de 1,0 g/100 mL (S1, S2, S3) de 2,0 g/100 (S4, S5 e S6) e 3,0 g/100 mL (S7, S8, S9). A proporção do núcleo foi de 25% (S1, S4, S7); 50% (S2, S5, S8) e 75% (S3, S6, S9).

As imagens da microscopia eletrônica de varredura das microcápsulas de AA após o processo de liofilização de todos os tratamentos realizados podem ser observadas nas Figuras 3.5, 3.6, 3.7, 3.8 e 3.9. Todas as microcápsulas apresentaram estruturas semelhantes, com partículas aglomeradas e com formatos não definidos, o

que é bastante comum em microcápsulas que passaram pelo processo de secagem por liofilização. No entanto, também foram encontradas algumas microcápsulas isoladas em imagens com maior aumento.

Figura 3.5 – Micrografias das microcápsulas de AA liofilizadas das amostras S1 (1,0 g/100 mL e 25% de núcleo) com aumento de 60X (A) e 20000X (B) e S2 (1,0 g/100 mL e 50% de núcleo) com aumento de 60X (A) e 5000X (B).

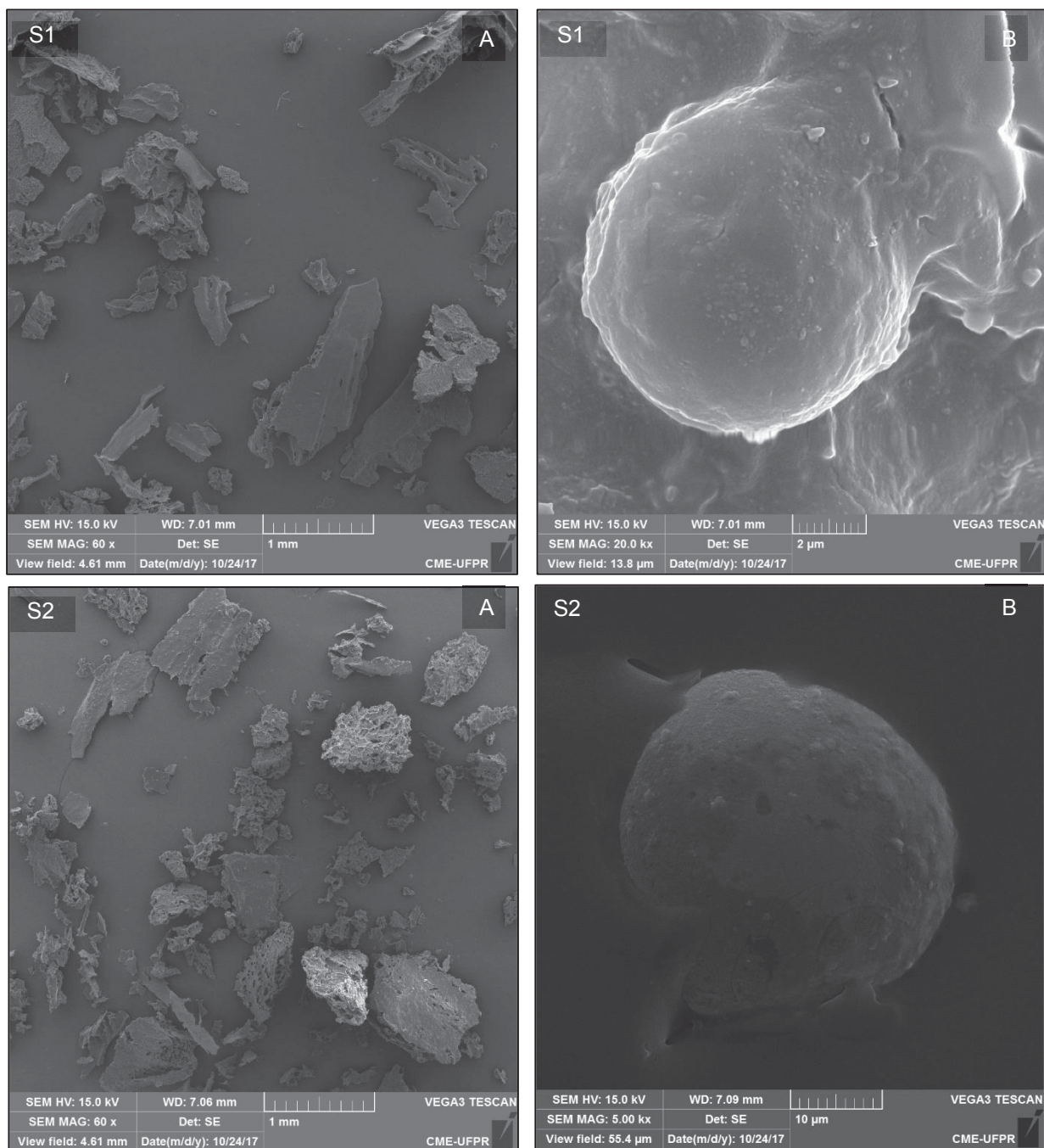


Figura 3.6 – Micrografias das microcápsulas de AA liofilizadas das amostras S3 (1,0 g/100 mL e 75% de núcleo) e S4 (2,0 g/100 mL e 25% de núcleo) com aumento de 60X (A) e 5000X (B).

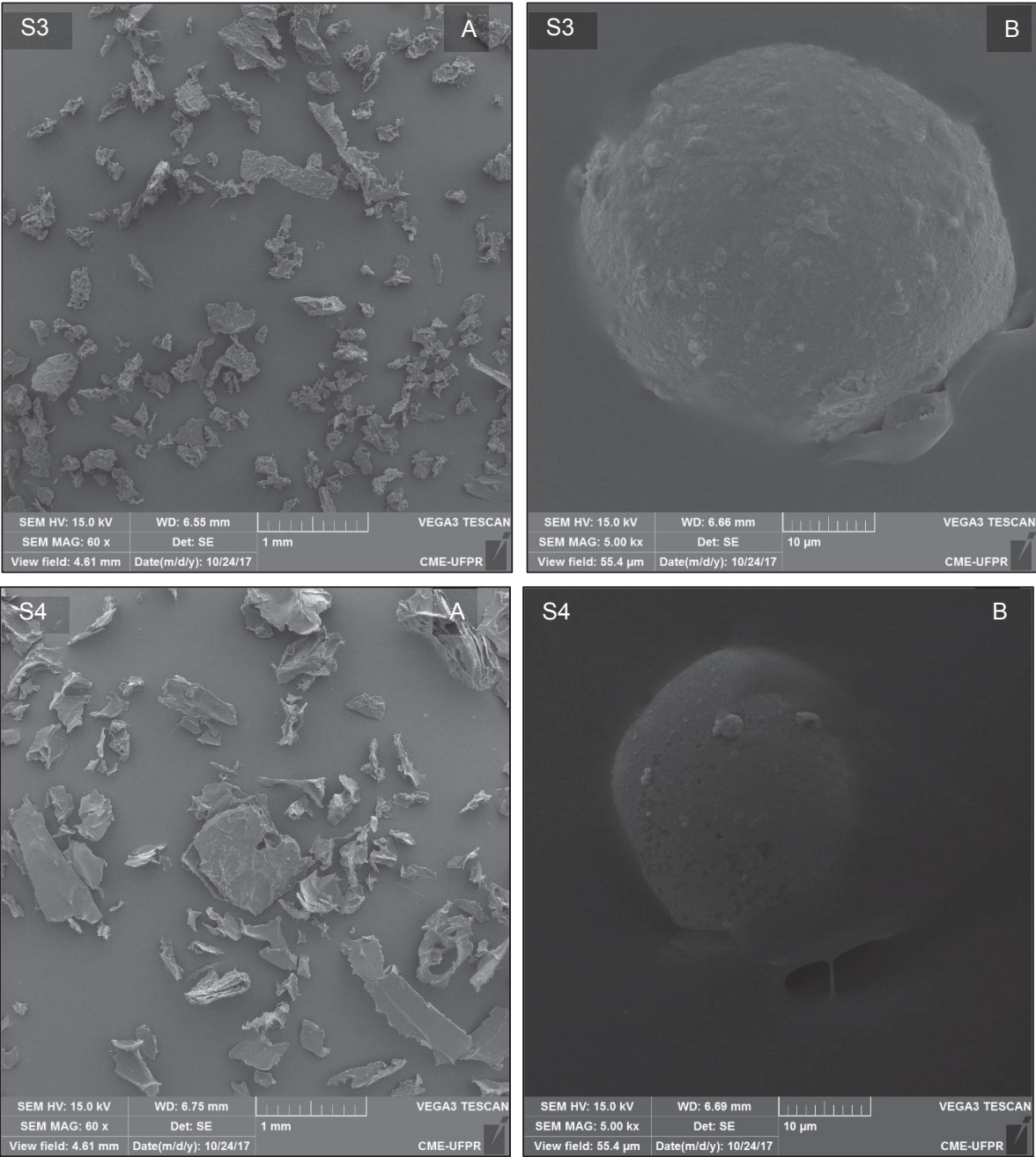


Figura 3.7 – Micrografias das microcápsulas de AA liofilizadas das amostras S5 (2,0 g/100 mL e 50% de núcleo) e S6 (2,0 g/100 mL e 75% de núcleo) com aumento de 60X (A) e 5000X (B).

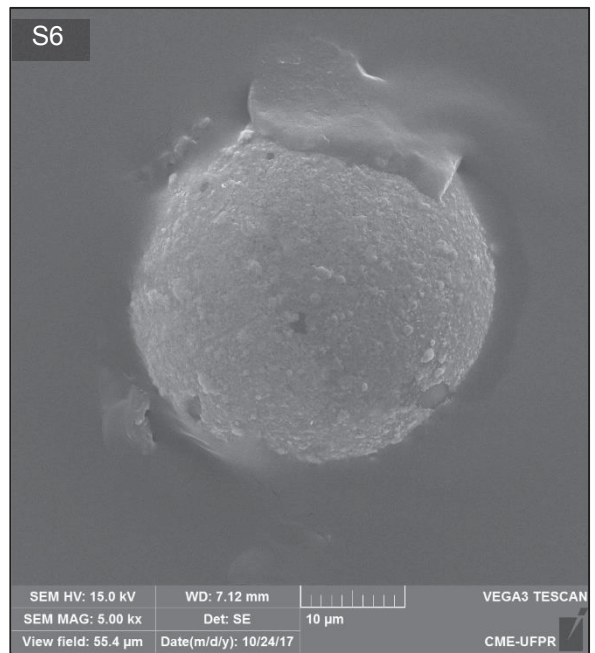
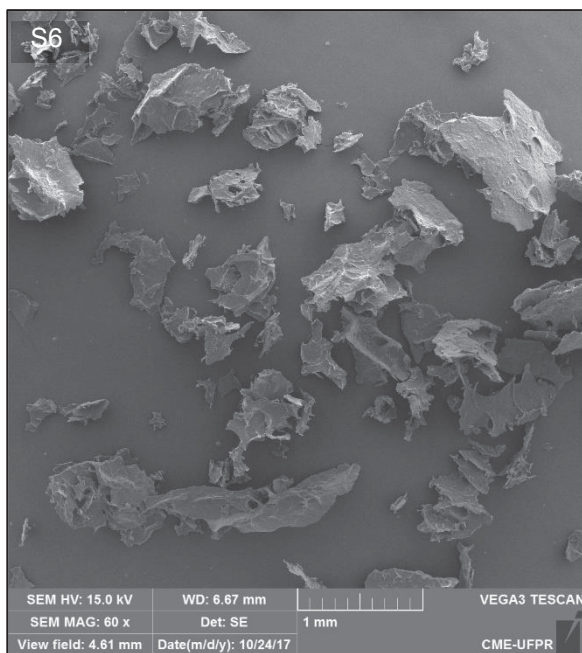
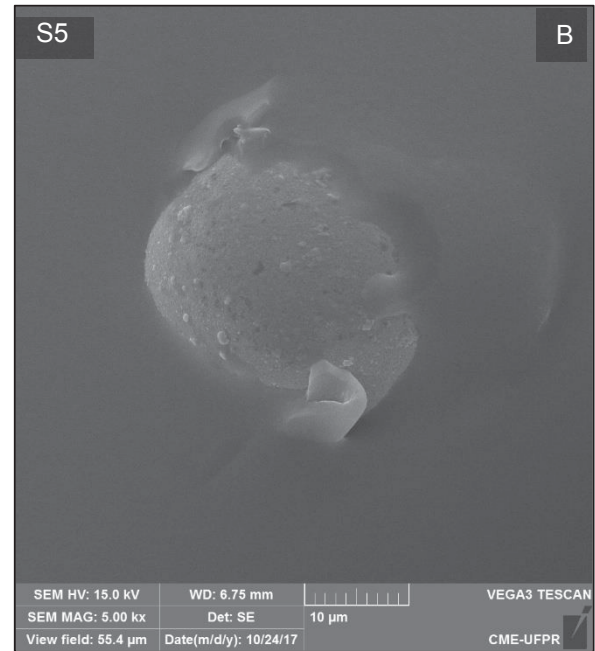
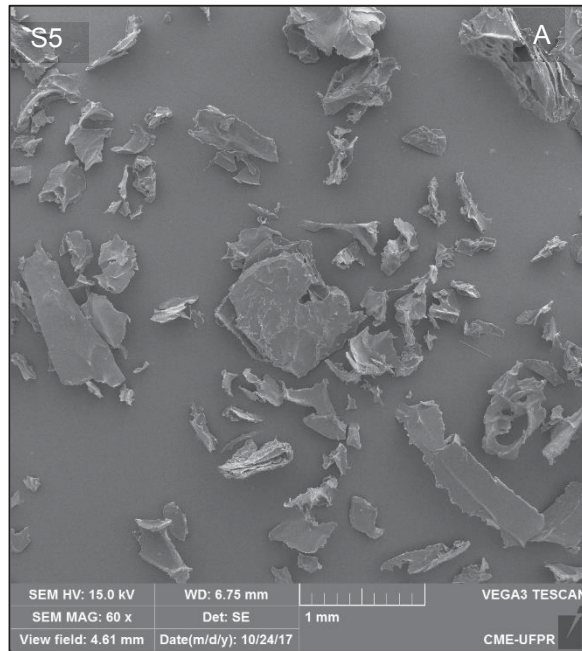


Figura 3.8 – Micrografias das microcápsulas de AA liofilizadas das amostras S7 (3,0 g/100 mL e 25% de núcleo) e S8 (3,0 g/100 mL e 50% de núcleo) com aumento de 60X (A) e 5000X (B).

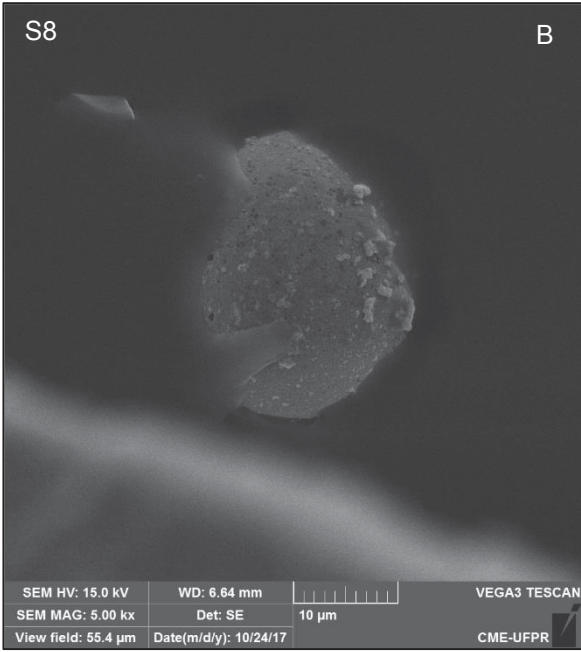
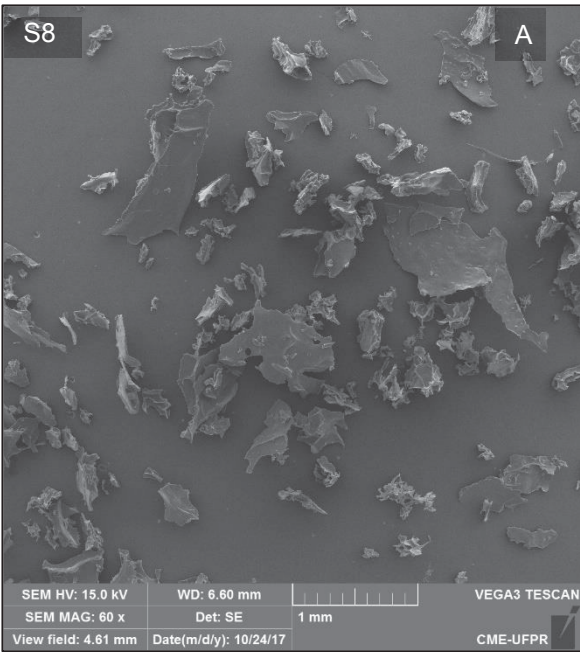
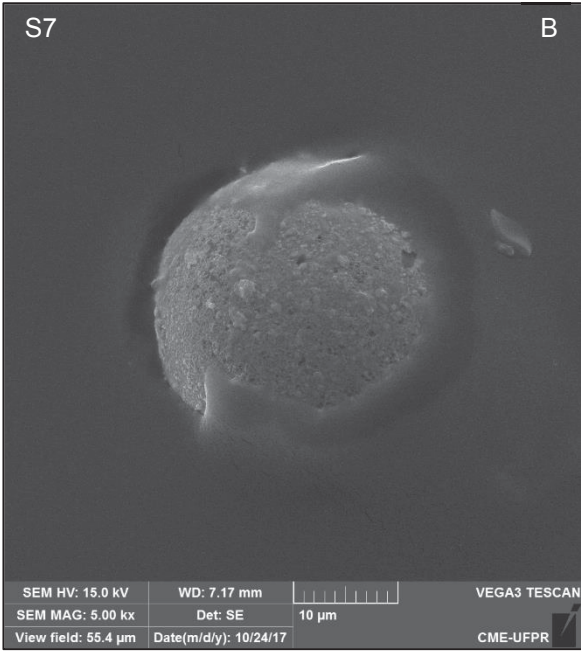
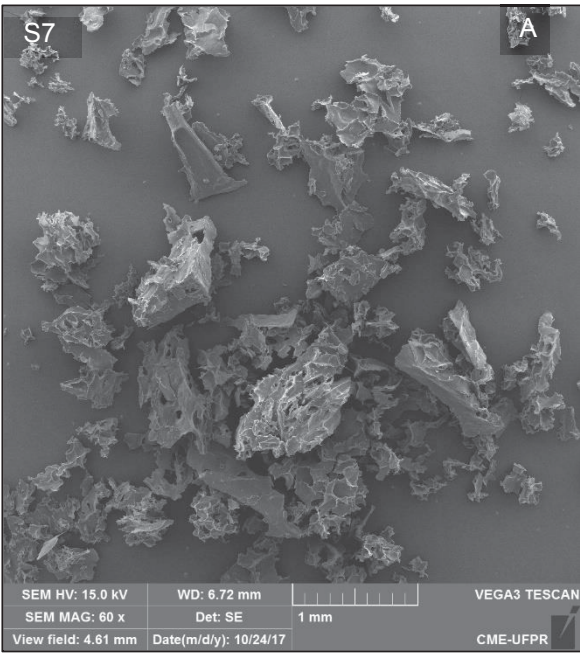
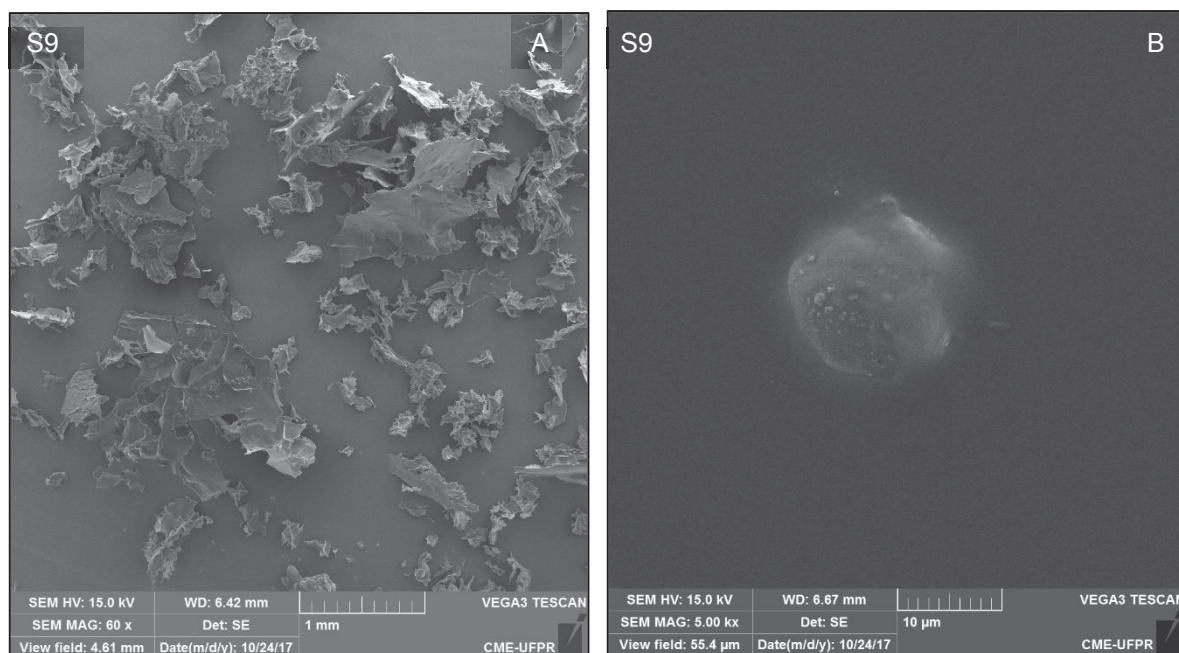


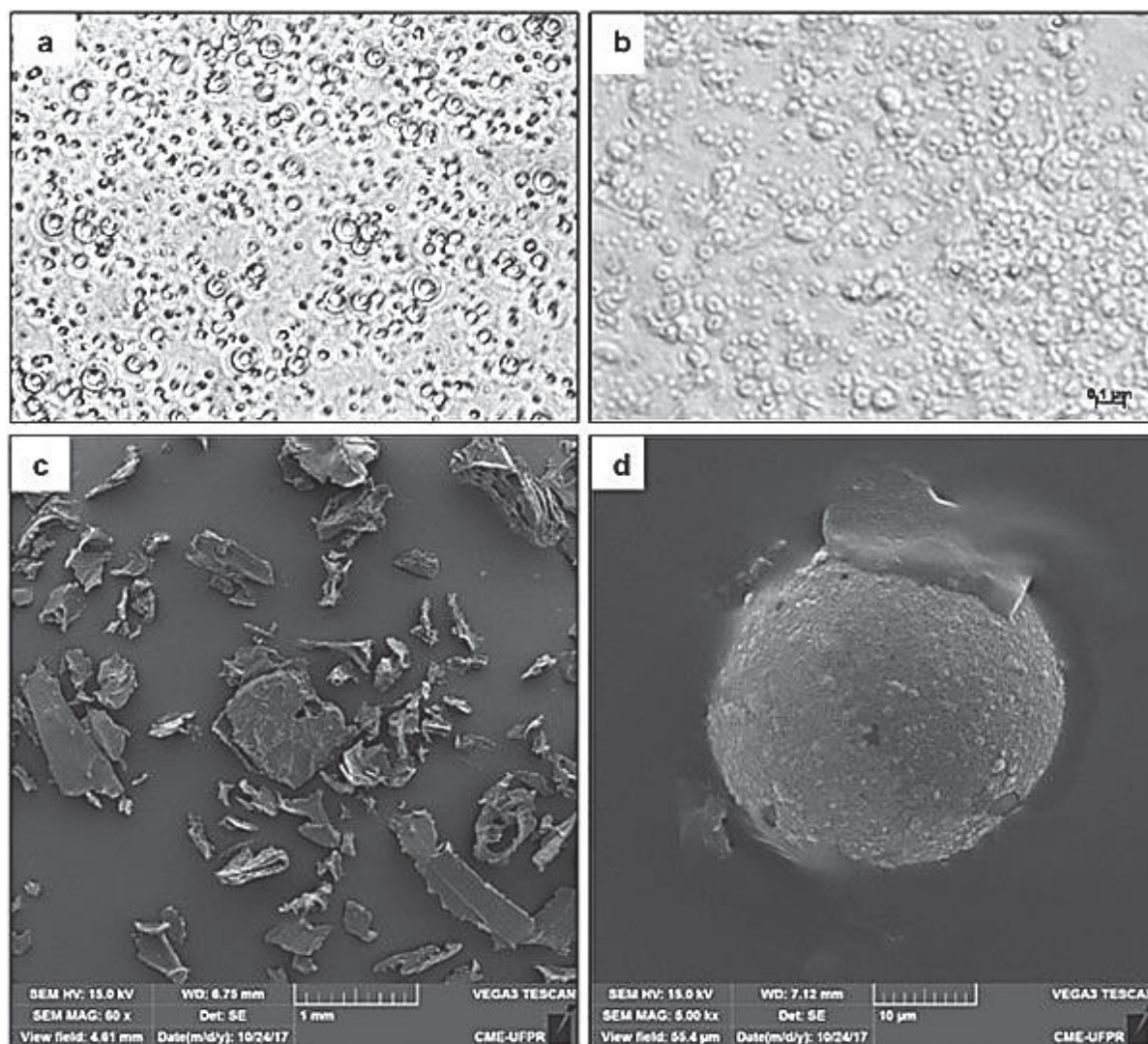
Figura 3.9 – Micrografias das microcápsulas de AA liofilizadas da amostra S9 (3,0 g/100 mL e 75% de núcleo) com aumento de 60X (A) e 5000X (B).



As imagens das microscopia ótica e eletrônica de varredura da amostra S5 foram reunidas em apenas uma (Figura 3.10) para melhor visualização. A microscopia ótica das partículas coacervadas úmidas (Figura 3.10a) e das microcápsulas liofilizadas são apresentadas na Figura 3.10b. A Figura 3.10a mostra microcápsulas esféricas do tipo reservatório, preenchidas com pequenas gotículas da solução de AA dentro da gota de óleo, ambos imersos na solução de gelatina, confirmando a formação da emulsão dupla.

As Figuras 3.10c e 3.10d apresentam as imagens da microscopia eletrônica de varredura das microcápsulas liofilizadas. A Figura 3.10c revela uma estrutura aglomerada, que é muito comum em partículas submetidas ao processo de secagem por liofilização. Este mesmo comportamento foi observado por Comunian et al. (2016a), Rocha-Selmi et al. (2013a) e Butstraen e Salaün (2014). A Figura 3.10d mostra microcápsulas com paredes contínuas e sem rachaduras e poros. As microcápsulas porosas são indesejáveis porque podem facilitar a entrada de oxigênio e a difusão de água na microcápsula, resultando em uma liberação rápida do AA para o meio. Estes resultados confirmam que o processo de secagem escolhido foi adequado, pois não foi encontrado nenhum dano ao longo da superfície das microcápsulas. Uma superfície não danificada é importante para garantir maior proteção e retenção do material encapsulado.

Figura 3.10 – Micrografias das microcápsulas de AA da amostra S5 (2,0 g/100 mL e 50% de núcleo): microscopia ótica da amostra S5 coacervada (1600 X); (b) microscopia ótica da amostra S5 liofilizada (1600 X); (c) MEV da amostra S5 liofilizada (60 X); (d) MEV da amostra S5 liofilizada (5000 X).



3.3 Análise de cor

A análise de cor foi realizada para avaliar a mudança de coloração das microcápsulas de AA durante 90 dias de armazenamento. As Tabelas 3.4, 3.5 e 3.6 apresentam os resultados obtidos para os parâmetros L^* , a^* e b^* , respectivamente. O parâmetro L^* representa a luminosidade da amostra, ou a quantidade de luz que é refletida de uma cor. As amostras S2, S4 e S6 não apresentaram diferença significativa no parâmetro L^* nos 90 dias de armazenamento quando comparados com o tempo 0.

As demais amostras (S1, S3, S5, S8 e S9) apresentaram um aumento no parâmetro L^* durante os 90 dias de armazenamento. Esta alteração na luminosidade

pode estar ligada ao aumento da concentração do material de parede e do núcleo, pois apenas a amostra S1 foi preparada com uma porcentagem menor de núcleo; as amostras S3, S5, S8 e S9 foram preparadas com 50 e 75% de núcleo e com concentrações de 2,0 e 3,0 g/100 mL de material de parede.

Tabela 3.4 - Valores de L* para as microcápsulas de AA durante 90 dias de armazenamento.

Amostras	Tempo 0	30 dias	60 dias	90 dias
S1	72,1 ^{Dc} ± 0,2	74,8 ^{Aa} ± 0,1	74,7 ^{Ba} ± 0,3	73,9 ^{Cb} ± 0,1
S2	74,8 ^{Aa} ± 0,1	75,1 ^{Aa} ± 0,1	62,9 ^{Fb} ± 0,6	73,9 ^{Ca} ± 0,2
S3	74,5 ^{Ac} ± 0,1	74,03 ^{Ac} ± 0,01	75,6 ^{Ab} ± 0,2	76,8 ^{Aa} ± 0,1
S4	69,42 ^{Ea} ± 0,01	69,3 ^{Ca} ± 2,2	73,71 ^{Ca} ± 0,1	72,6 ^{Da} ± 0,1
S5	67,2 ^{Fb} ± 0,2	68,1 ^{Cab} ± 0,4	67,6 ^{Eb} ± 0,1	68,9 ^{Ea} ± 0,1
S6	72,4 ^{Da} ± 0,1	70,7 ^{Bca} ± 0,1	71,9 ^{Da} ± 0,1	72,2 ^{Da} ± 0,1
S7	73,80 ^{Bb} ± 0,01	73,1 ^{ABc} ± 0,2	74,39 ^{BCa} ± 0,03	73,8 ^{Bb} ± 0,1
S8	73,1 ^{Cc} ± 0,1	73,4 ^{ABbc} ± 0,3	74,00 ^{BCb} ± 0,2	75,4 ^{Ba} ± 0,1
S9	74,9 ^{Ab} ± 0,1	73,38 ^{ABd} ± 0,01	74,4 ^{BCc} ± 0,1	75,9 ^{Ba} ± 0,1

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna e letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si estatisticamente pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

A concentração de GE:PEC foi de 1,0 g/100 mL (S1, S2, S3), 2,0 g/100 (S4, S5 e S6) ou 3,0 g/100 mL (S7, S8, S9). A proporção do núcleo foi de 25% (S1, S4, S7), 50% (S2, S5, S8) ou 75% (S3, S6, S9).

A Tabela 3.5 apresenta os resultados obtidos para o parâmetro a* de todas as amostras das microcápsulas de ácido ascórbico durante o período de 90 dias. Conforme a concentração do material de parede e a proporção do núcleo aumentaram, ocorreu um aumento nos valores do parâmetro a*, indicando uma tendência das amostras para a coloração vermelha. Este comportamento foi observado para as amostras S3 (1,0 g/100 mL e 75% núcleo), S4 e S5 (2,0 g/100 mL e 25 e 50% núcleo).

Tabela 3.5 - Valores de a* das microcápsulas de AA durante 90 dias de armazenamento.

Amostras	Tempo 0	30 dias	60 dias	90 dias
S1	4,5 ^{BCc} ± 0,2	5,97 ^{CDa} ± 0,03	4,98 ^{BCb} ± 0,04	4,4 ^{Cc} ± 0,1
S2	4,7 ^{Bb} ± 0,1	5,9 ^{CDa} ± 0,1	3,3 ^{Fc} ± 0,2	2,8 ^{Dc} ± 0,1
S3	3,1 ^{Dd} ± 0,1	5,70 ^{Da} ± 0,1	3,9 ^{DEc} ± 0,1	4,4 ^{Cb} ± 0,1
S4	4,81 ^{Bc} ± 0,03	6,9 ^{Aa} ± 0,2	6,6 ^{Aa} ± 0,1	5,9 ^{ABb} ± 0,1
S5	5,4 ^{Ab} ± 0,3	6,3 ^{BCa} ± 0,2	5,2 ^{Bb} ± 0,1	6,4 ^{Aa} ± 0,1
S6	4,62 ^{Bb} ± 0,1	6,1 ^{CDa} ± 0,2	4,02 ^{C^{Dc}} ± 0,04	4,2 ^{Cbc} ± 0,1
S7	4,57 ^{Bb} ± 0,03	6,9 ^{ABa} ± 0,1	4,9 ^{BCb} ± 0,1	4,2 ^{Cc} ± 0,2
S8	4,0 ^{Cc} ± 0,1	7,0 ^{Aa} ± 0,1	4,5 ^{Cc} ± 0,2	5,8 ^{Bb} ± 0,1
S9	4,1 ^{ABab} ± 0,1	3,62 ^{Ebc} ± 0,04	3,4 ^{EFc} ± 0,2	4,16 ^{Ca} ± 0,1

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna e letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si estatisticamente pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

A concentração de GE:PEC foi de 1,0 g/100 mL (S1, S2, S3), 2,0 g/100 (S4, S5 e S6) ou 3,0 g/100 mL (S7, S8, S9). A proporção do núcleo foi de 25% (S1, S4, S7), 50% (S2, S5, S8) ou 75% (S3, S6, S9).

Os resultados obtidos para o parâmetro b^* de todas as formulações das microcápsulas de ácido ascórbico durante os 90 dias de armazenamento estão apresentados na Tabela 3.6. Os valores do parâmetro b^* demonstraram a variação de cor do azul ao amarelo, onde valores positivos representam a cor amarela e valores negativos representam tons de azul. As amostras S1, S7 e S9 não apresentaram diferença significativa nos 90 dias de armazenamento, em comparação com o tempo 0. A amostra S5 (2,0 g/100 mL e 50% núcleo) foi a amostra que apresentou a maior variação no parâmetro b^* durante o armazenamento, de 21,1 no tempo 0 para 23,17 em 90 dias. Esta variação pode ter ocorrido devido ao AA presente na superfície das microcápsulas.

Tabela 3.6 - Valores de b^* para as microcápsulas de AA durante 90 dias de armazenamento.

Amostras	Tempo 0	30 dias	60 dias	90 dias
S1	19,9 ^{ABa} ± 0,2	21 ^{Ca} ± 0,1	19,9 ^{BCDa} ± 0,2	20,3 ^{Aa} ± 0,1
S2	20,2 ^{Aa} ± 0,1	20 ^{Ca} ± 0,1	7 ^{Gc} ± 1	17,2 ^{Eb} ± 0,2
S3	16,6 ^{Dd} ± 0,2	20,3 ^{Ca} ± 0,1	18,15 ^{Ec} ± 0,1	18,8 ^{Db} ± 0,1
S4	20,6 ^{Ab} ± 0,1	22,5 ^{ABab} ± 0,2	21 ^{Aab} ± 1	22,7 ^{Aa} ± 1
S5	21,1 ^{Abc} ± 0,4	21,9 ^{Bb} ± 0,2	20,7 ^{ABc} ± 0,1	23,17 ^{Aa} ± 0,04
S6	19,9 ^{ABb} ± 0,1	21,9 ^{Ba} ± 0,5	18,9 ^{DEc} ± 0,1	19,1 ^{CDbc} ± 0,1
S7	20 ^{Ab} ± 1	22,9 ^{Aa} ± 0,1	20,2 ^{BCb} ± 0,1	20,1 ^{BCb} ± 0,1
S8	18,8 ^{BCc} ± 0,2	22,4 ^{ABa} ± 0,1	19,1 ^{CDEc} ± 0,4	20,9 ^{Bb} ± 0,1
S9	18,3 ^{Ca} ± 0,3	16,9 ^{Db} ± 0,1	16,8 ^{Fb} ± 0,2	18,1 ^{DEa} ± 0,1

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna e letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si estatisticamente pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

A concentração de GE:PEC foi de 1,0 g/100 mL (S1, S2, S3), 2,0 g/100 (S4, S5 e S6) ou 3,0 g/100 mL (S7, S8, S9). A proporção do núcleo foi de 25% (S1, S4, S7), 50% (S2, S5, S8) ou 75% (S3, S6, S9).

3.4 Estabilidade das microcápsulas de AA

Os resultados de estabilidade das microcápsulas de AA durante o período de 60 dias e para o AA puro (controle) durante 15 dias estão apresentados na Tabela 3.7. O AA é um composto muito instável, e esta instabilidade é ocasionada pela exposição à luz, calor e concentração de oxigênio, além de fatores como pH e atividade de água, os quais influenciam significativamente na velocidade de reação (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010). Neste trabalho, as microcápsulas não foram expostas à luz e nem a variações de temperatura, no entanto houve uma rápida degradação do AA em sua forma pura, como pode ser observado na Tabela 3.8.

A amostra de AA não encapsulada utilizada como controle apresentou uma degradação mais intensa do que o AA microencapsulado: em apenas 15 dias de armazenamento foram retidos somente 15% de AA. Devido a esta alta degradação

não foi possível fazer a sua quantificação de AA a partir do 18º dia, quando o conteúdo de AA disponível foi de 2,5%. Comunian et al. (2013) e Comunian et al. (2014) observaram este mesmo comportamento de liberação rápida do AA livre.

Tabela 3.7 – Estabilidade das microcápsulas de aa durante 60 dias de armazenamento a 20 °C, expressa em %.

Amostras	1º dia	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias
S1	24 ^{Ea} ± 3	15 ^{Gb} ± 1	8 ^{Fc} ± 4	4 ^{Dc} ± 1	2 ^{Dc} ± 1
S2	77 ^{Ba} ± 3	66 ^{Cb} ± 2	57 ^{Bc} ± 1	29 ^{Bd} ± 2	8,9 ^{Ec} ± 0,5
S3	35 ^{Da} ± 3	28 ^{EFb} ± 3	17 ^{DEc} ± 2	6 ^{Dd} ± 1	2,6 ^{Dd} ± 0,2
S4	55 ^{Ca} ± 2	43 ^{Db} ± 3	32 ^{Cc} ± 2	13 ^{Cc} ± 1	5 ^{De} ± 1
S5	94 ^{Aa} ± 1	87 ^{Ab} ± 2	78 ^{Ac} ± 2	52 ^{Ad} ± 2	25 ^{Ae} ± 2
S6	81 ^{Ba} ± 1	76 ^{Ba} ± 3	58 ^{Bb} ± 2	48 ^{Ac} ± 3	21 ^{Db} ± 2
S7	51 ^{Ca} ± 3	43 ^{Db} ± 1	32 ^{Cc} ± 1	8 ^{Dc} ± 2	5 ^{Dc} ± 1
S8	35 ^{Da} ± 3	22 ^{Fb} ± 1	11 ^{EFc} ± 2	6 ^{Dc} ± 2	6 ^{Dc} ± 1
S9	52 ^{Ca} ± 3	34 ^{Eb} ± 3	19 ^{Dc} ± 3	5 ^{Dd} ± 1	4 ^{Dc} ± 1
AA puro	100,00 ± 0,02	15 ± 1	-	-	-

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna e letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si estatisticamente pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

As amostras microencapsuladas também apresentaram degradação, porém com uma velocidade menor que o AA livre. O comportamento das amostras variou conforme a concentração do material de parede e a proporção do núcleo. No entanto não foi observada uma relação direta entre o aumento da concentração de material de parede e a estabilidade, a exemplo das amostras S7, S8 e S9, que retiveram 5, 6 e 4% de AA nos 60 dias de armazenamento.

A amostra S5 foi a mais estável durante o período analisado, com 25% de AA disponível: esta maior estabilidade pode ser explicada pela EE (94%), ou seja, nesta amostra havia pouco AA na superfície da microcápsula, aumentando a sua estabilidade. Já a amostra S1 apresentou apenas 2% de AA após 60 dias de análise, assim como um dos menores diâmetros médios (7 µ) e EE (24%). Sabe-se que quanto menor o tamanho da microcápsula, maior a área de superfície exposta, portanto a maior quantidade de AA superficial nesta amostra comprometeu sua estabilidade.

3.4 Análise térmica

A análise térmica foi realizada para avaliar o comportamento térmico das microcápsulas de AA, assim como da gelatina, da pectina e do AA puro. A amostra

S5 foi escolhida por sua maior EE (94%) para ser plotada juntamente com os materiais de parede para comparação dos eventos térmicos.

A Figura 3.11 mostra os termogramas (TG) das microcápsulas da amostra S5, gelatina, pectina e AA puro e suas respectivas derivadas. A Tabela 3.8 apresenta os parâmetros termogravimétricos das amostras, dos materiais de parede (gelatina e pectina) e do AA puro. O termograma da gelatina exibiu dois eventos de degradação térmica, um evento entre 31 e 139 °C, relacionado a aproximadamente 9% de perda de massa como resultado da remoção de água da amostra. O segundo evento térmico ocorreu em 271,8 a 391,4 °C, representando 57% de perda de massa, provavelmente devido à degradação das proteínas presentes na gelatina. Ao final do processo restou cerca de 1% de massa, que pode ser atribuído ao resíduo mineral (cinzas).

A pectina mostrou três eventos térmicos. O primeiro evento ocorreu de 32 a 70 °C e está relacionado a uma perda de massa de 1,9%, atribuída à remoção de umidade da amostra. O segundo evento térmico ocorreu entre 190 e 208 °C e é atribuído à perda de grupos de cadeia lateral como os ácidos e carbonatos do anel piranosídico. O terceiro e mais pronunciado evento térmico ocorreu em uma faixa de temperatura de 222 a 256 °C, onde 31% de massa foram perdidos devido à degradação da amostra. Neste passo, a decomposição pirolítica consiste em descarboxilação primária e secundária envolvendo o grupo ácido lateral e um carbono anelar da molécula de pectina (MONFREGOLA et al., 2011).

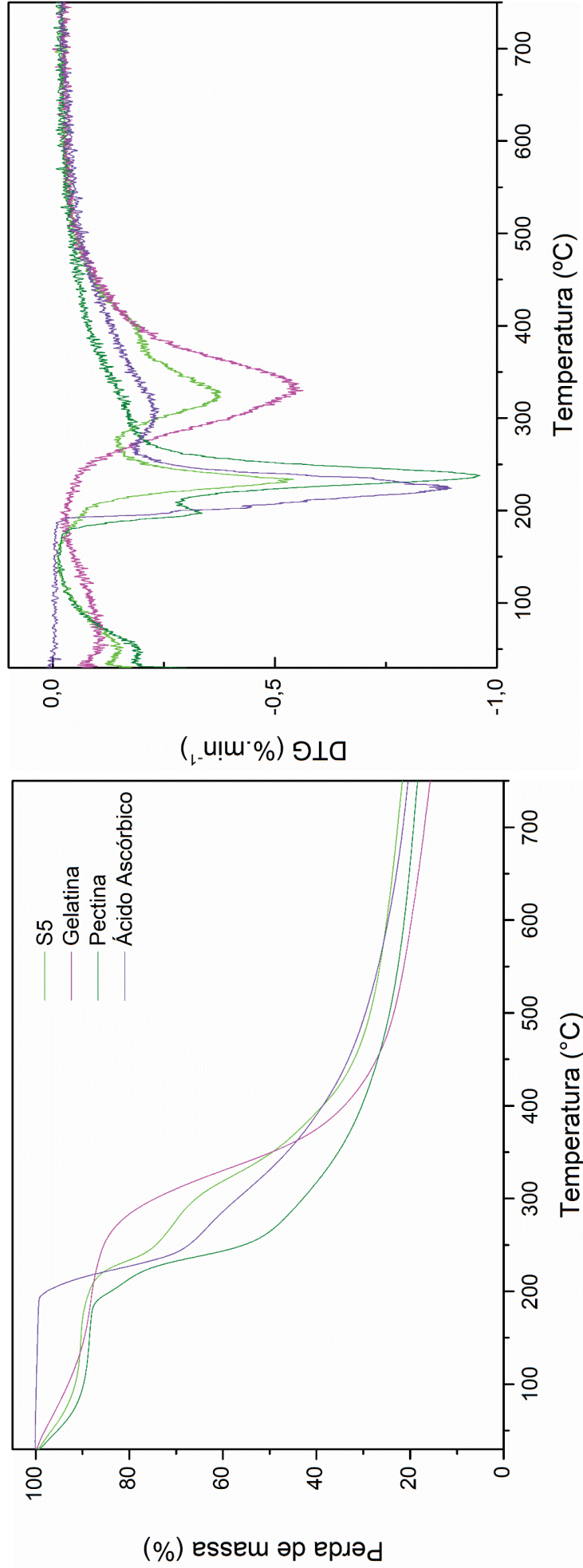
O AA puro apresentou dois eventos térmicos, o primeiro a 194 a 250 °C relacionado a 32% de perda de massa, e o segundo a 275 a 311 °C, correspondendo a uma perda de massa de 12,4%. Segundo Jingyan et al. (2013), o principal evento relacionado à decomposição térmica do AA ocorre na faixa de temperatura de 191 a 268 °C, de acordo com a faixa encontrada neste estudo. Neste intervalo de temperatura ocorre a perda simultânea de uma molécula de água e uma molécula de CO₂.

A degradação térmica da amostra S5 ocorreu em três etapas: o primeiro evento ocorreu de 34,6 a 80 °C (5,9% de perda de massa), o segundo de 216 a 248 °C (13,6% da perda de massa) e o terceiro de 296,4 a 353,5 °C. O terceiro evento foi o que apresentou a maior perda de massa, cerca de 26%. Nesta faixa de temperatura, a perda de massa é geralmente associada à liberação do núcleo juntamente com a decomposição do polissacarídeo (pectina) e a proteína (gelatina) usadas como materiais de parede (LV et al., 2013). A amostra S5 apresentou eventos térmicos

semelhantes aos do AA (núcleo), da gelatina e da pectina (materiais de parede), confirmando a presença destes materiais nas microcápsulas.

A Figura 3.12A e B apresenta o perfil térmico de todas as amostras e suas respectivas derivadas. Observa-se que todas as amostras apresentaram comportamento semelhante, com diferença na intensidade dos picos e nas temperaturas de degradação de cada amostra. As amostras S2, S3, S4 e S6 apresentaram 4 eventos de degradação térmica, enquanto as demais amostras apresentaram 3 eventos. A estabilidade térmica do AA aumentou quando comparado com ao AA puro. A faixa de temperatura em que o AA teve sua maior degradação (perda de massa) foi de 194 a 250 °C, já nas amostras houve uma perda de massa menor para a mesma faixa de temperatura. Portanto, o processo de microencapsulação aumentou a estabilidade do AA, como pode ser observado na Tabela 3.8, o que aumenta a gama de aplicação deste composto.

Figura 3.11 - Comportamento térmico das microcápsulas da amostra S5, gelatina, pectina e do AA puro e suas respectivas derivadas.



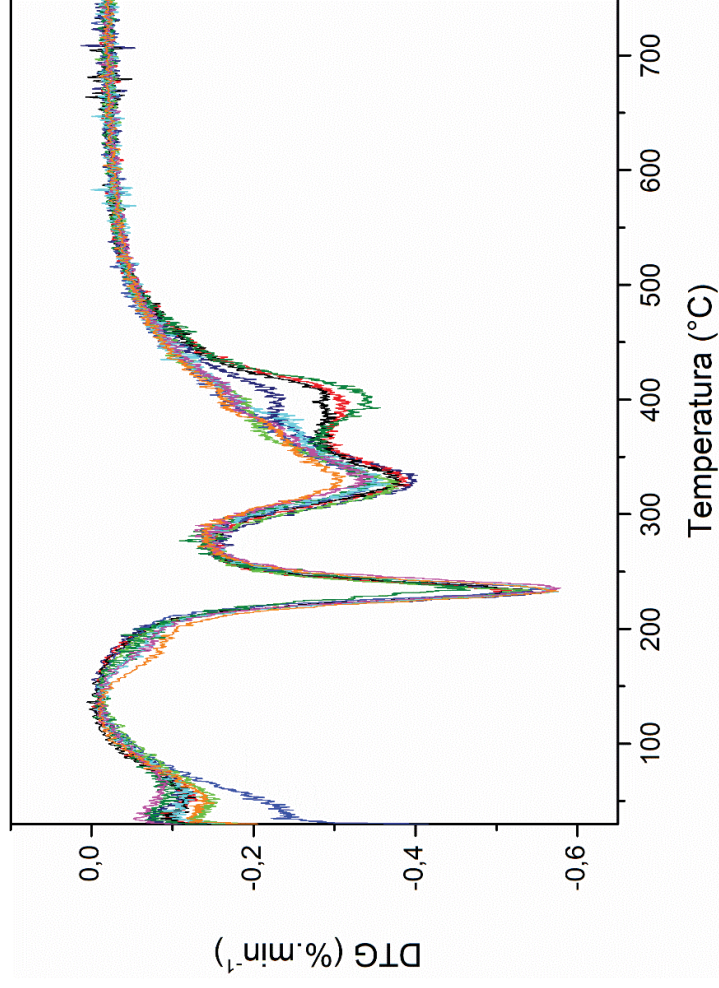
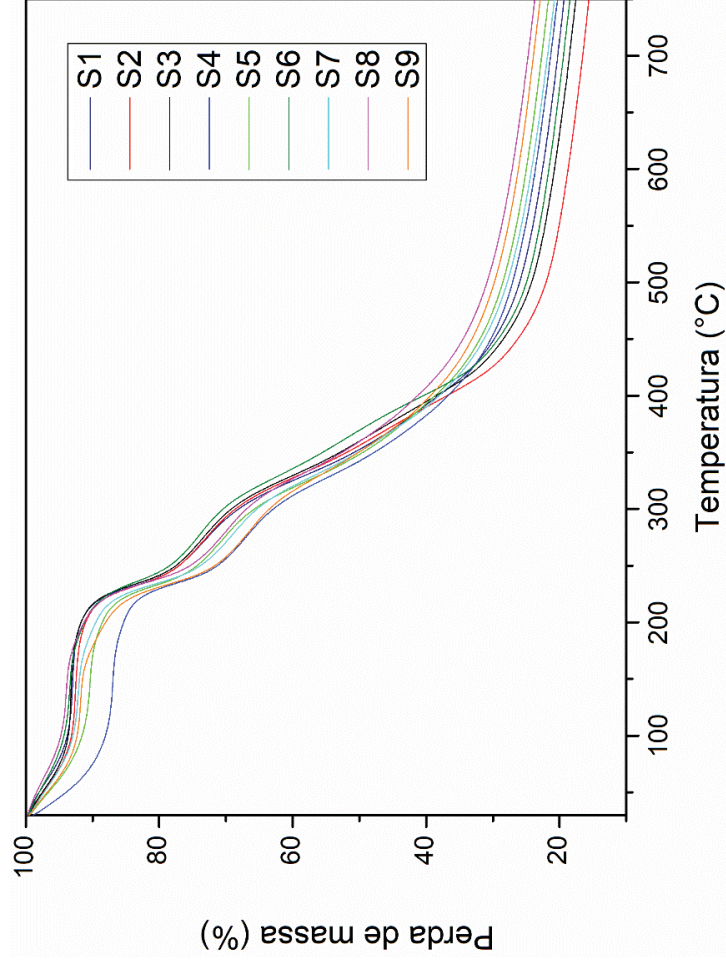


Figura 3.12 - Comportamento térmico das microcápsulas de AA e de suas respectivas derivadas.

3.8 - Parâmetros termogravimétricos das amostras, da gelatina, da goma arábica e do AA.

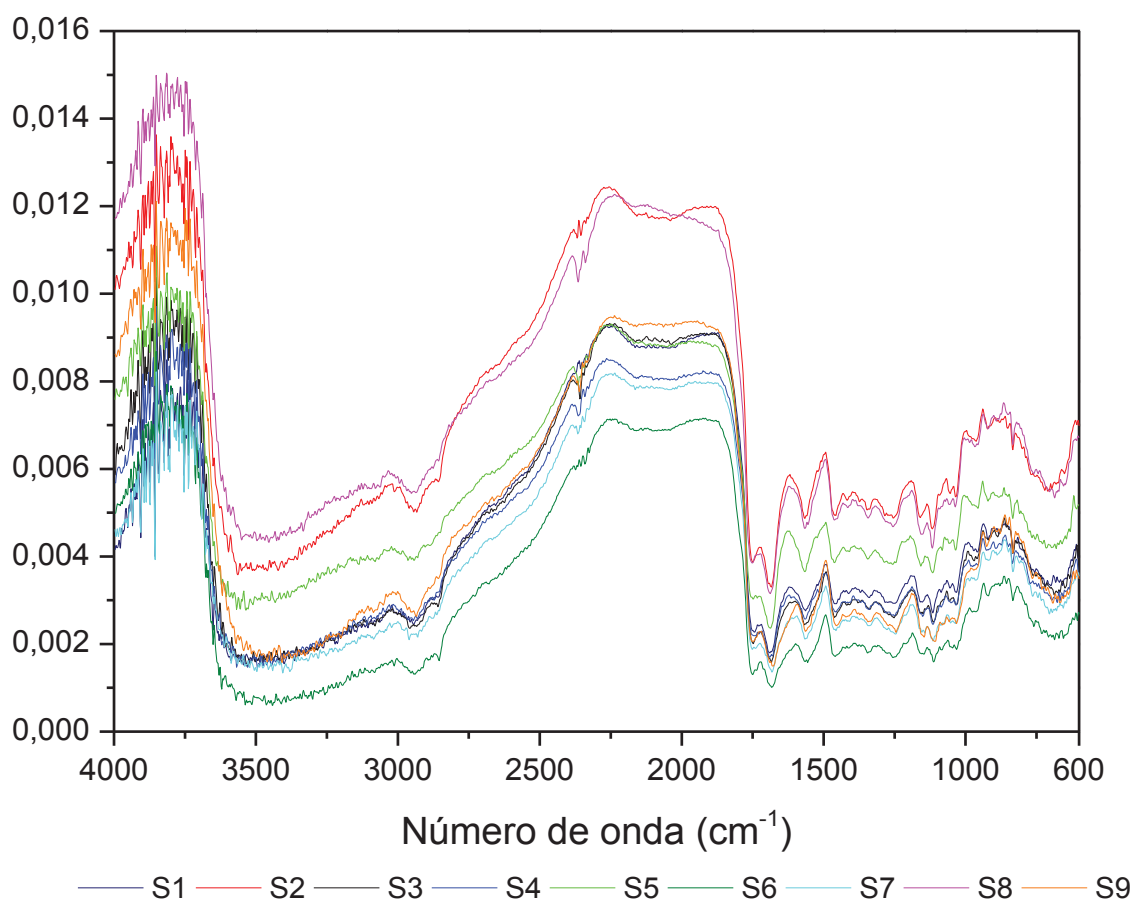
Amostras	Etapas de degradação	Ti (°C)	Tp (°C)	Tf (°C)	Δm %
Tabela S1	1 ^a	29,3	59,01	91,9	8,2%
	2 ^a	215,9	232,9	347,8	13,7
	3 ^a	297,5	330,6	363,4	31,8
Resíduo					1
S2	1 ^a	29,3	56,6	78,7	5,5
	2 ^a	217,5	232,7	247,3	12,8
	3 ^a	302,2	325	349,8	23,7
	4 ^a	341,5	403,2	424,3	33,3
Resíduo					0,8
S3	1 ^a	29,1	57,5	82,5	5,5
	2 ^a	214,7	233,2	250,8	14,2
	3 ^a	298,1	324,2	352,4	25
	4 ^a	380	405,1	423,6	26,8
Resíduo					1
S4	1 ^a	33,4	48,1	65,5	6,3
	2 ^a	216,8	233,9	250,6	17,5
	3 ^a	217	327	363,9	47,3
	4 ^a	382,5	406,7	428	18,3
Resíduo					1
S5	1 ^a	34,6	57,5	80	5,9
	2 ^a	216	233,2	248	13,6
	3 ^a	296,4	325,3	353,5	26,9
Resíduo					1
S6	1 ^a	29,15	63,4	69,9	3,7
	2 ^a	219,6	235,9	254,3	8
	3 ^a	30,3,8	326,6	345,1	18,2
	4 ^a	384,6	404,8	421,2	25,4
Resíduo					1
S7	1 ^a	29,6	61,6	81,6	5,7
	2 ^a	218,5	284,4	251,9	15,6
	3 ^a	308,2	329,2	396	38,9
Resíduo					1,0
S8	1 ^a	42,2	66,4	87,2	2
	2 ^a	217,8	236,8	254,1	16,1
	3 ^a	303,8	332,1	360,9	24,5
Resíduo					1,2
S9	1 ^a	34,13	55,9	84,5	4,5
	2 ^a	215,2	234,8	251,6	16,7
	3 ^a	302,4	333,2	395,4	36,2
Resíduo					1,3
Gelatina	1 ^a	31	68,3	138,9	9,3
	2 ^a	271,7	335,3	391,4	57,3
Resíduo					0,7
Pectina	1 ^a	32,4	51,6	70,6	1,9
	2 ^a	190	198,1	208	5,8
	3 ^a	222	239,7	256,4	31,3
Resíduo					1
Ácido ascórbico	1 ^a	194	224,4	250,1	32,3
	2 ^a	275,3	310	311	12,4
Resíduo					0,1

T_i , temperatura inicial; T_p , temperatura de pico; T_f , temperatura final; Δm , perda de massa.

3.5 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

O principal objetivo da realização dessa análise foi confirmar a formação do complexo entre a gelatina e a pectina utilizados durante o processo de microencapsulação. A Figura 3.13 apresenta os espectros obtidos de todas as amostras (S1 a S9), onde é possível observar que as amostras apresentaram um comportamento semelhante, com diferenças apenas na intensidade dos picos. Tais diferenças estão relacionadas à concentração do material de parede e à proporção do núcleo utilizado na produção das microcápsulas.

Figura 3.13 - Espectros obtidos por FTIR das amostras S1 a S9.



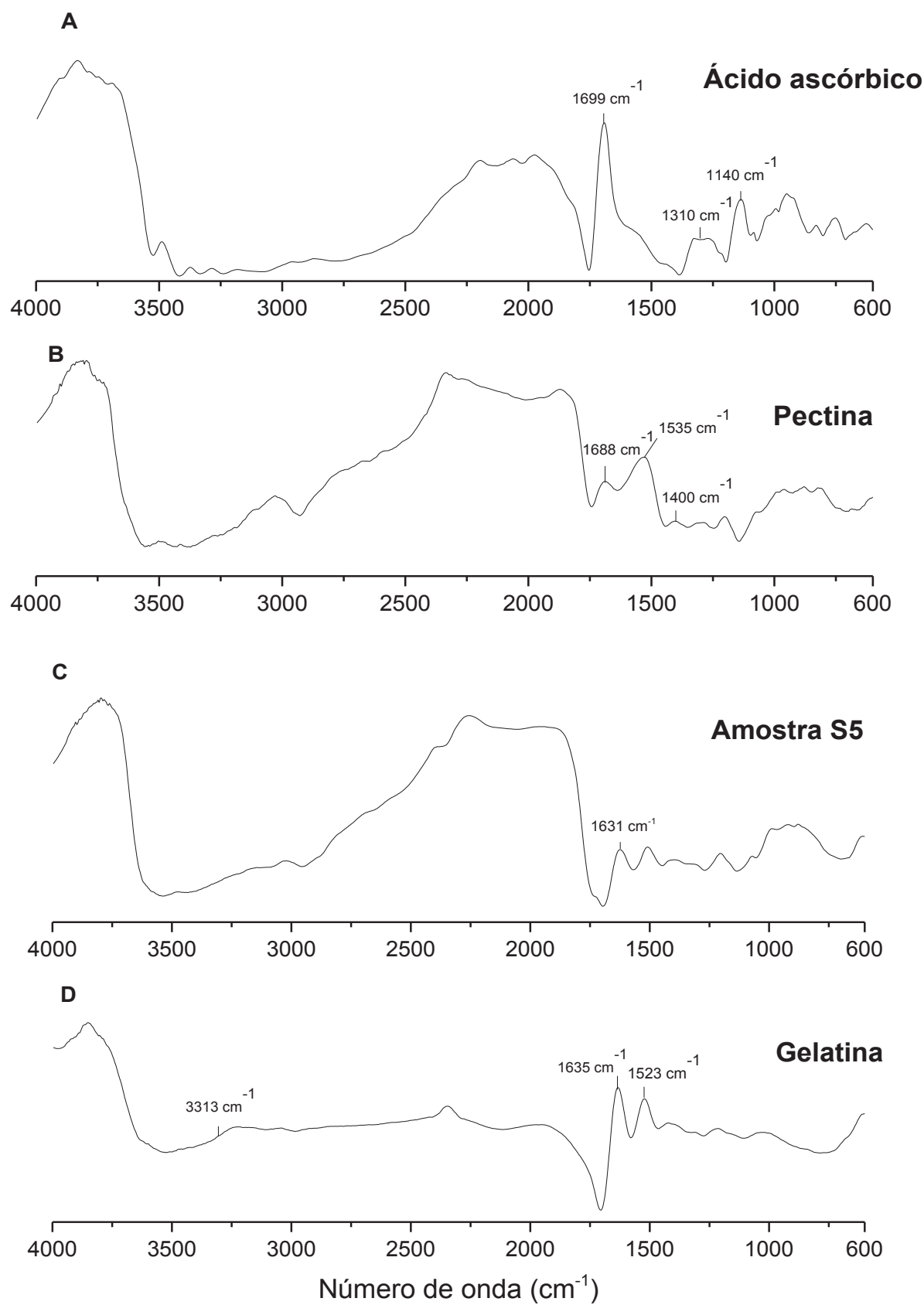
A Figura 3.14 mostra os espectros obtidos para a amostra S5, para os materiais de parede (gelatina e pectina) e para o AA puro. Esta amostra foi plotada com juntamente com os materiais de parede para uma análise mais detalhada dos picos. O espectro de gelatina pode ser observado na Figura 3.14. Um pico em torno de 3313

cm^{-1} é observado no espectro da gelatina, que é característico dos grupos amina, os quais apresentam cargas positivas.

Os polissacarídeos, como a pectina, possuem grupos carboxila livres, com cargas negativas. A interação desses dois grupos (cargas positivas e negativas) promove o processo de coacervação complexa, com consequente formação de amidas. Isto pode ser observado no espectro da amostra S5 em aproximadamente 1631 cm^{-1} , devido à reação entre o grupo amino da gelatina e o grupo carboxila da pectina, confirmando a formação do complexo. De Souza et al. (2018) e Anvari e Chung (2016) também observaram uma banda de amida a 1635 cm^{-1} , muito semelhante à encontrada neste estudo.

O espectro de pectina (Figura 3.14B) mostra uma região característica de grupos carboxílicos ($1750\text{-}1350 \text{ cm}^{-1}$) com a maior intensidade para a banda esterificada a 1750 cm^{-1} e para o grupo COO desprotonado ($1600\text{-}1650 \text{ cm}^{-1}$), o que pode estar relacionado ao grau de esterificação da pectina (DE), um parâmetro importante para esses compostos (FELLAH et al., 2009; SARAVANAN e RAO, 2010). Isso confirma que a pectina utilizada neste estudo é de baixo grau de metoxilação (GARCÍA-SALDAÑA et al., 2016). O espectro do AA puro apresentou picos aos 1140 , 1310 e 1699 cm^{-1} , que de acordo com Desai e Park (2005) podem ser atribuídos aos grupos C=O e OH presentes na molécula do AA.

Figura 3.14 - Espectros obtidos por FTIR para (A) AA puro, (B) pectina, (C) amostra S5 e (D) gelatina.



3.6 Perfil de liberação em fluidos gástrico e intestinal simulados

A liberação de compostos encapsulados envolve várias etapas, tais como absorção de solvente pela microcápsula, dissolução da parede, dissolução do núcleo, permeação do núcleo pela parede e difusão do núcleo pelo solvente (PEREIRA et al., 2009). O revestimento utilizado no processo de microencapsulação é de grande importância, uma vez que é responsável pela liberação controlada do núcleo. O mecanismo de liberação pode ser modulado pelo peso molecular do polímero utilizado: quanto maior for o seu peso molecular, mais lenta será a liberação *in vitro* dos compostos encapsulados (KUMARI, YADAV e YADAV, 2010)

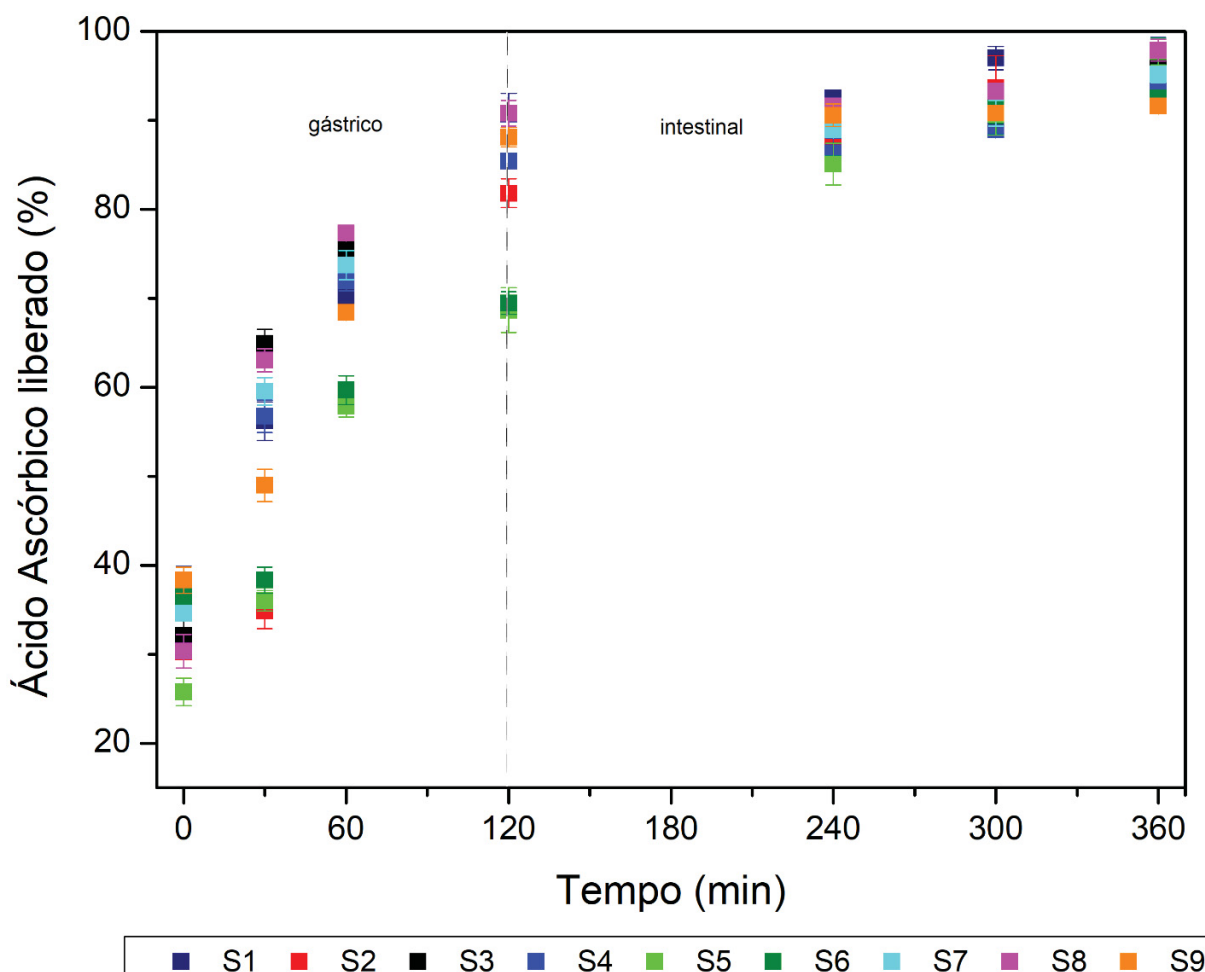
A Figura 3.15 apresenta o perfil de liberação *in vitro* das microcápsulas AA com diferentes concentrações de material de parede e diferentes proporções de núcleo. De maneira geral, todas as amostras apresentaram um comportamento semelhante, com uma liberação mais pronunciada nos primeiros 120 min de análise na presença do fluido gástrico e uma liberação mais lenta no líquido intestinal, adicionado a partir dos 120 min. Nos primeiros 30 min de análise em fluido gástrico simulado, as amostras S3 (64,94%) e S8 (63,02%) apresentaram maior taxa de liberação quando comparadas com as demais. Embora essas amostras tenham sido preparadas com diferentes concentrações de material de parede e com diferentes proporções de núcleo, elas não apresentaram diferença significativa na EE ($p > 0,05$). Estas amostras também apresentaram baixa EE, 35,4% para a S3 e 34,8% para a S8, resultando em uma quantidade maior de material ativo aderido à sua superfície, portanto uma liberação mais rápida.

As amostras S5 e S6 exibiram uma liberação mais lenta durante os primeiros 120 min, o que pode estar relacionado à EE (94% para S5 e 81% para S6). Uma EE elevada indica que a quantidade de material de parede foi suficiente para cobrir todo o núcleo, deixando pouco material ativo não encapsulado e consequentemente diminuindo a velocidade de liberação do núcleo para o meio.

Quando o líquido intestinal foi adicionado ao fluido gástrico (após 120 min do início da análise de liberação), houve uma redução na taxa de liberação e o AA restante nas microcápsulas foi gradualmente liberado até 360 min. No corpo humano, espera-se que o conteúdo das microcápsulas seja liberado em pequenas quantidades sob condições gástricas, enquanto a liberação é gradual e completa em condições

intestinais, pois é no intestino que a maioria dos nutrientes são absorvidos (SOMCHUE et al., 2009).

Figura 3.15 – Perfil de liberação de microcápsulas de AA em fluidos gástrico e intestinal simulados.



Rutz et al. (2016) avaliaram o perfil de liberação de carotenoides das microcápsulas produzidas com quitosana/tripolifosfato de sódio e quitosano/carboximetilcelulose como materiais de parede. As partículas produzidas com quitosano/carboximetilcelulose apresentaram liberação mais rápida no fluido gástrico (cerca de 81%) e liberação mais lenta no líquido intestinal, o que pode ser considerado um comportamento de liberação ideal de acordo com os autores. Rutz et al. (2017) estudaram a liberação de carotenoides a partir de óleo de palma encapsulado em quitosana, goma de xantana e pectina por coacervação complexa seguida de liofilização e secagem por *spray-drying*. Os autores alcançaram uma liberação de cerca de 80% dos carotenoides em 120 min para microcápsulas

lioofilizadas produzidas com quitosana/pectina, resultado similar ao encontrado neste estudo.

Luo et al. (2011) avaliaram a liberação de tocoferol em diferentes concentrações (10, 20 e 30%), utilizando como materiais de parede a zeína e a quitosana. As microcápsulas com maior concentração de tocoferol (30%) exibiram liberação mais lenta quando comparadas às demais concentrações. Cerca de 50% de tocoferol foi liberado em condições gástricas e 30% em condições intestinais, ou seja, a liberação foi mais rápida nas condições gástricas e mais lenta em condições intestinais. O mesmo comportamento foi observado neste estudo, uma liberação mais rápida no fluido gástrico (pH 1, 8) em comparação com o fluido intestinal (pH 6,8).

O mecanismo de liberação do AA das microcápsulas produzidas neste estudo pode estar relacionado à dissolução da parede ou mesmo à degradação da partícula, já que além da variação do pH, a presença de proteases dos fluidos gástrico e intestinal simulados no meio pode ter contribuído para a dissolução da gelatina presente na parede das microcápsulas. De acordo com Comunian e Favaro-Trindade (2016), as micropartículas produzidas por coacervação complexa podem ser facilmente degradadas como resultado da variação do pH, alterando a solubilidade dos polímeros utilizados como materiais de parede, levando à liberação do núcleo.

4 CONCLUSÃO

As microcápsulas produzidas neste estudo apresentaram uma eficiência de encapsulação (EE) que variou de 24 a 94%, baixa solubilidade em água e baixa higroscopicidade. A amostra S5 (2,0 g/100 mL de material de parede e 50% de núcleo) foi a mais estável durante os 60 dias de armazenamento, com cerca de 25% de AA disponível. De maneira geral, a liberação do AA presente nas microcápsulas foi mais pronunciada em fluido gástrico do que em fluido intestinal. A amostra S5 apresentou uma liberação de apenas 69% do conteúdo do AA microencapsulado em 120 min e uma liberação gradual e completa (98%) em fluido intestinal. Os resultados obtidos indicam que o processo de microencapsulação, assim como os materiais de parede escolhidos, provaram ser adequados para microencapsular o AA, pois aumentaram a estabilidade térmica do agente ativo, o que facilita sua incorporação em matrizes alimentícias.

CAPÍTULO 4

Microcápsulas de AA obtidas a partir da emulsão dupla (A/O/A) seguida de liofilização utilizando a inulina e a gelatina como materiais de parede

Microcápsulas de AA obtidas a partir da emulsão dupla (A/O/A) seguida de liofilização utilizando a inulina e a gelatina como materiais de parede

RESUMO

O objetivo deste capítulo foi avaliar a estabilidade térmica e as características físico-químicas de microcápsulas de ácido ascórbico (AA) obtidas a partir da emulsão dupla (A/O/A) seguida de liofilização utilizando a gelatina e a inulina como materiais de parede em diferentes concentrações. As microcápsulas foram produzidas com inulina e gelatina em concentrações de 2,5, 5,0 e 7,5 g/100 mL cada. As microcápsulas liofilizadas foram avaliadas quanto ao comportamento térmico, características físico-químicas e estabilidade ao longo de 60 dias de armazenamento. As microcápsulas apresentaram baixa atividade de água (0,303-0,508) e baixa higroscopicidade (2,1–4,1 g/100g). A solubilidade em água variou de 12 a 50% e a eficiência de encapsulação, de 20 a 91%. A amostra contendo 7,5 g/100 mL de material de parede e 50% de núcleo foi a mais estável, com 60% de AA disponível em 60 dias. A estabilidade térmica do AA encapsulado aumentou consideravelmente, de 224 °C para 412 °C. Estes resultados indicam que as microcápsulas obtidas neste estudo apresentam grande potencial para a aplicação em alimentos, com benefícios adicionais relacionados ao poder prebiótico atribuído à inulina, o que aumentará o perfil nutricional dos alimentos adicionados do AA encapsulado.

Palavras-chave: vitamina C; encapsulação; prebiótico; análise térmica; estabilidade.

1 INTRODUÇÃO

O ácido ascórbico (AA) é amplamente utilizado na indústria alimentícia como antioxidante, porém é um composto muito instável quando exposto a fatores como luz e oxigênio, limitando sua aplicação em determinados alimentos (ABBAS et al., 2012; DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010). No organismo, o AA exerce uma função vitamínica e é considerado um composto bioativo devido à sua capacidade de contribuir para o sistema antioxidante do corpo combatendo os radicais livres.

A encapsulação é uma alternativa para aumentar a estabilidade do AA e facilitar sua adição em formulações de alimentos. Dentre os diversos métodos de encapsulação, a liofilização é um método de encapsulação adequado para materiais

sensíveis ao calor e à temperatura, como o AA (DESAI e PARK, 2005). Além do método de encapsulação, a escolha dos polímeros de parede é fundamental para a estabilidade das cápsulas (FERNANDES et al., 2014).

Os materiais de parede mais utilizados na encapsulação são os amidos modificados, as gomas, as proteínas de soro de leite e a gelatina (COMUNIAN et al., 2013; FERNANDES et al., 2014; PALMA-RODRIGUEZ et al., 2013; RUTZ et al., 2013). No entanto, estes materiais não exibem propriedades funcionais como a inulina. Assim, a substituição desses materiais de parede por outros que beneficiam a saúde dos consumidores tem despertado a atenção da indústria de alimentos nos últimos anos. A inulina é um frutano natural composto por uma cadeia linear de monômeros de frutose unidos por ligações do tipo β (2 \rightarrow 1) com uma unidade terminal de glicose unida por uma ligação α (2 \rightarrow 1) (BARCLAY et al., 2012; MENSINK et al., 2015). A inulina é uma fibra alimentar e tem atividade prebiótica, o que significa que ela não é digerida pelo organismo humano e é degradada apenas por certas bactérias do cólon (probióticos), como as bifidobactérias (KOLIDA e GIBSON, 2007) Roberfroid, 2007). Entre as várias aplicações da inulina, podemos destacar seu uso na indústria de alimentos como substituto da gordura e do açúcar e como agente espessante ou geleificante (GLIBOWSKI, 2010), na estabilização de proteínas e na liberação modificada de drogas (MENSINK et al., 2015), ou como ingrediente funcional em alimentos (FERNANDES et al., 2017a; KAROLINI-SKARADZIŃSKA et al., 2007; ZAHN, PEPKE e ROHM, 2010).

A aplicação de inulina como agente encapsulante ainda é pouco explorada e há poucos relatos na literatura em que a inulina foi utilizada como o único material de parede. A maior parte das pesquisas foi realizada utilizando a inulina em misturas com outros materiais encapsulantes, principalmente carboidratos, como as gomas, as maltodextrinas e os amidos modificados, embora haja alguns estudos relatando misturas de inulina com proteínas de soro de leite (FERNANDES et al., 2017b).

A gelatina é um polímero natural produzido pela hidrólise parcial do colágeno, principal constituinte proteico fibroso dos ossos, cartilagens e peles (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2011). A gelatina tem sido amplamente utilizada na indústria alimentícia como emulsificante, agente espumante, como material de embalagem biodegradável e mais recentemente como material de parede nos processos de encapsulação devido ao seu baixo custo e natureza não tóxica (CHIU et al., 2007; GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2011).

Gómez-Estaca et al. (2017) utilizaram gelatina como agente encapsulante da curcumina com o objetivo de melhorar as propriedades antioxidantes e antimicrobianas por atomização eletro-hidrodinâmica. Rajabi et al. (2015) avaliaram a retenção de componentes bioativos do açafrão utilizando uma mistura de maltodextrina, goma arábica e gelatina como materiais de parede por *spray drying*.

Apesar de algumas pesquisas terem sido realizadas utilizando gelatina com outros materiais de parede, não há dados sobre a combinação de inulina e gelatina como materiais de parede na literatura. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar se o ácido ascórbico termoestável encapsulado com poder prebiótico poderia ser obtido a partir de uma emulsão dupla (A/O/A) seguido de liofilização utilizando inulina e gelatina como materiais de parede.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAIS

Gelatina bovina tipo B (Gelita América do Sul, Mococa, Brasil) e inulina (grau de polimerização >10, Orafti®HP, BENEIO-Orafti, Tienen, Bélgica) foram utilizadas como materiais de parede e o ácido ascórbico (AA) com 99,9 % de pureza (Biotec, Pinhais, Brasil) foi utilizado como núcleo. O polirricinoleato de poliglicerol (PGPR 90) (SGS Agricultura e Indústria Ltda, Ponta Grossa, Brasil) e óleo de milho (Cargill, Mairinque, Brasil) foram utilizados para produzir a emulsão simples.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Planejamento experimental

A Tabela 4.1 apresenta o planejamento fatorial completo 3^2 para avaliar os efeitos da concentração dos materiais de parede (gelatina e pectina) e da proporção do núcleo (AA) na eficiência de encapsulação.

Tabela 4.1 – Planejamento experimental completo 3².

Variável	Nível		
	-1	0	+1
Concentração do material de parede* (g/100 mL)	2,5	5,0	7,5
Proporção do núcleo (%)**	25	50	75

*A proporção de gelatina:inulina (m/v) foi fixada em 1:1.

**Porcentagem de emulsão simples (núcleo) em relação à concentração total dos polímeros (m/m).

A Tabela 4.2 apresenta a combinação dos níveis e variáveis utilizados no planejamento fatorial completo 3² acoplado à superfície de resposta, totalizando 9 ensaios, avaliados em triplicata.

Tabela 4.2 – Variáveis e níveis utilizados no planejamento experimental completo 3².

Níveis		Concentração material de parede g/100 mL*	Proporção do núcleo (%)**
0	+1	5,0	75
+1	0	7,5	50
-1	-1	2,5	25
-1	0	2,5	50
+1	+1	7,5	75
0	-1	5,0	25
+1	-1	7,5	25
-1	+1	2,5	75
0	0	5,0	50

*A proporção de gelatina:inulina (m/v) foi fixada em 1:1.

**Porcentagem de emulsão simples (núcleo) em relação à concentração total dos polímeros (m/m).

2.2.2 Preparação das emulsões

Antes do processo de liofilização, foi preparada uma emulsão dupla do tipo água-óleo-água (A/O/A) segundo a metodologia descrita por Rodrigues da Cruz et al. (2019). Inicialmente foram preparadas 100 mL de uma solução de gelatina com concentrações de 2,5, 5,0 e 7,5 g/100 mL e 100 mL de uma solução de inulina com concentrações de 2,5, 5,0 e 7,5 g/100 mL. Estas soluções foram mantidas sob agitação magnética a 45 ± 2 °C até completa dissolução. A emulsão simples do tipo (A/O) foi preparada utilizando uma solução de AA com concentração de 30% (m/v), óleo de milho (m/v) na proporção 1:1 (fase aquosa/fase oleosa) e surfactante lipofílico PGPR 90 a uma concentração de 0,8% (m/m) em relação à massa total da emulsão.

A mistura foi homogeneizada em um Ultra-Turrax (T 25 digital, Ika, Alemanha) a 22.000 rpm durante 4 min. Esta emulsão simples foi considerada como o núcleo. O núcleo foi lentamente adicionado a 100 mL de solução de gelatina nas concentrações

de 2,5, 5,0 e 7,5 g/100 mL a 45 ± 2 °C para a formação da emulsão dupla (A/O/A). A emulsificação foi realizada em um homogeneizador Ultra-Turrax a uma velocidade de 14.000 rpm por 3 min.

As soluções de inulina nas concentrações de 2,5, 5,0 e 7,5 g/100 mL a 45 ± 2 °C foram lentamente adicionadas às emulsões duplas sob agitação magnética constante durante 5 min. Em seguida as amostras foram resfriadas e armazenadas em placas de Petri, revestidas com papel alumínio, congeladas (-18 °C) por 24 h e liofilizadas (LIOBRAS, LIOTOP modelo L101) a -52 °C por 48 h. Após liofilização, as amostras foram adicionadas a frascos de vidro revestidos com papel alumínio e armazenadas em um dessecador.

2.2.3 Caracterização das microcápsulas

2.2.3.1 Eficiência de encapsulação (EE), teor de umidade e atividade de água (A_w), solubilidade e higroscopicidade

As análises de determinação de eficiência de encapsulação, teor de umidade e atividade de água (A_w), solubilidade e higroscopicidade das microcápsulas de AA foram realizadas conforme as metodologias descritas nos itens 2.2.5.1, 2.2.5.3 e 2.2.5.4 do Capítulo 2.

2.2.4. Estabilidade das microcápsulas de AA e análise térmica

As análises de estabilidade e a análise térmica seguiram a metodologia descrita nos itens 2.2.7 e 2.2.8 do Capítulo 2.

2.2.6 Análise estatística

Os resultados obtidos nas determinações experimentais foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Quando os resultados mostraram diferenças significativas entre as médias, estes foram comparados pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de significância ($p \leq 0,05$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Propriedades físico-químicas das microcápsulas de AA

A Tabela 4.3 apresenta as propriedades físico-químicas das microcápsulas de AA liofilizadas. A EE é um dos parâmetros mais importantes nos processos de encapsulação, especialmente para compostos hidrofílicos, como o AA. A EE variou de 20 a 91%, e as amostras S2 e S7 apresentaram a menor e a maior EE, respectivamente. Estes valores estão diretamente relacionados com a concentração do material de parede, que na amostra S2 não foi suficiente para cobrir todo o núcleo, ou seja, uma grande quantidade de núcleo permaneceu aderida à superfície da microcápsula. Já a amostra S7 apresentou o comportamento inverso: a concentração do material de parede foi suficiente para cobrir toda a superfície da microcápsula.

Não foram encontrados dados na literatura sobre microcápsulas produzidas usando inulina e gelatina como materiais de parede por liofilização. No entanto, para fins de comparação foram encontrados outros estudos utilizando a inulina como agente encapsulante, a maioria deles utilizando a microencapsulação por *spray dryer*. Fernandes et al. (2017b) avaliaram os efeitos da mistura de isolado proteico de soro de leite com maltodextrina e inulina para encapsular o óleo de gengibre por *spray drying*. Os autores encontraram uma EE que variou de 47,13 a 61,64 %, sendo que para a mistura de isolado proteico de soro e inulina foi encontrado 48,14 % de EE, valor menor do que o determinado neste estudo.

O teor de umidade variou de 1,5 a 13%. As amostras S7 e S9 apresentaram os menores resultados de umidade, 3 e 1,5%, respectivamente, quando comparadas com as amostras S1 (12%), S3 (13%) e S6 (12%), que apresentaram os maiores teores de umidade. Tanto a concentração do material de parede como a proporção do núcleo influenciaram nos teores de umidade, uma vez que não houve uma tendência definida entre os resultados, isto é, o teor de umidade não aumentou com o aumento da concentração do material de parede.

Tabela 4.3 – Propriedades físico-químicas das microcápsulas de AA liofilizadas.

Amostras	Concentração do material de parede (g/100 mL)	Proporção do núcleo (%)	EE (%)	Umidade (%)	Aw	Solubilidade (%)	Higroscopicidade (g/100g)
S1	2,5	25	50 ^e ± 2	12 ^a ± 1	0,508 ^a ± 0,074	12 ^c ± 1	3,7 ^{ab} ± 0,3
S2	2,5	50	20 ^g ± 1	6 ^b ± 1	0,462 ^{ab} ± 0,073	14 ^c ± 1	2,4 ^{ab} ± 0,4
S3	2,5	75	43 ^f ± 3	13 ^a ± 1	0,516 ^a ± 0,022	12 ^c ± 1	4 ^a ± 1
S4	5,0	25	22 ^g ± 2	6 ^b ± 2	0,310 ^c ± 0,025	33 ^b ± 1	2,9 ^{ab} ± 1
S5	5,0	50	85 ^{bc} ± 3	5,7 ^b ± 0,3	0,344 ^{bc} ± 0,350	46 ^a ± 3	2,1 ^b ± 0,4
S6	5,0	75	83 ^c ± 2	12 ^a ± 1	0,330 ^c ± 0,034	47 ^a ± 2	2,2 ^{ab} ± 1
S7	7,5	25	91 ^a ± 1	3 ^c ± 1	0,303 ^c ± 0,011	44 ^a ± 3	3,3 ^{ab} ± 0,1
S8	7,5	50	75 ^d ± 4	8 ^b ± 1	0,319 ^c ± 0,018	46 ^a ± 2	3,7 ^{ab} ± 0,2
S9	7,5	75	86 ^{bc} ± 2	1,5 ^c ± 0,3	0,343 ^c ± 0,042	50 ^a ± 4	4,1 ^{ab} ± 0,1

Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si estatisticamente pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

A A_w variou de 0,303 a 0,516, o que está dentro da faixa esperada para os produtos em pó, tendo em vista a estabilidade microbiológica. O aumento na concentração do material de parede diminuiu a A_w , como observado nas amostras com concentração acima de 5,0 g/100 mL. Os teores de umidade e A_w obtidos neste estudo foram superiores aos obtidos por Fernandes et al. (2016), que encapsularam óleo essencial de gengibre utilizando goma de caju e inulina como materiais de parede pelo processo de *spray-drying*. Essa diferença nos resultados pode ser explicada devido ao processo de secagem e pelas diferenças nas proporções entre os materiais de parede, pois os autores utilizaram dois polissacarídeos, enquanto neste estudo foi utilizado uma proteína e um polissacarídeo.

A solubilidade variou de 12 a 50%. As amostras S1, S2 e S3 não apresentaram diferença significativa entre si. Embora a solubilidade tenha aumentado com o aumento da concentração de material de parede, as amostras S5, S6, S7, S8 e S9 não apresentaram diferença nos valores de solubilidade ($p > 0,05$). Os resultados obtidos para essas amostras são semelhantes aos reportados por Fernandes, Borges e Botrel (2014) para a microencapsulação do óleo essencial de alecrim utilizando como materiais de parede uma mistura de goma arábica, amido, maltodextrina e inulina pelo processo de *spray-drying*.

Os valores de higroscopicidade foram baixos para todas as formulações testadas. Valores de higroscopicidade baixos melhoram a preservação e aumentam a estabilidade de produtos secos. A higroscopicidade variou de 2,1 a 4,1 g/100g, sendo que as amostras S3 (4 g/100g) e S5 (2,1 g/100g) apresentaram o maior e menor valor de higroscopicidade, respectivamente. Os resultados não apresentaram uma relação direta com a concentração do material de parede, mas com o aumento na proporção do núcleo (por exemplo, na amostra S3) houve um aumento nos valores de higroscopicidade. A amostra S3 também apresentou uma baixa EE, o que poderia explicar esse aumento na higroscopicidade.

A amostra S7 apresentou a maior EE, alta solubilidade em água e baixa umidade, A_w e higroscopicidade, ou seja, características desejáveis para aplicação das microcápsulas em produtos alimentícios.

3.2 Estabilidade das microcápsulas de AA

A estabilidade de uma microcápsula está diretamente relacionada às condições de armazenamento e à composição da solução ou matriz alimentar na qual este composto é adicionado. As amostras S5, S6, S7 e S9 foram escolhidas para a análise de estabilidade por apresentarem EE superiores a 80%.

Os resultados de estabilidade das microcápsulas AA das amostras S5, S6, S7 e S9 durante 60 dias de armazenamento e para o AA puro (controle) durante 15 dias são mostrados na Tabela 4.4.

AA é um composto muito instável, cuja degradação é influenciada por fatores como incidência de luz, variações de temperatura, altos valores de pH, alta concentração de oxigênio e alta atividade de água (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010). Embora neste estudo as microcápsulas não tenham sido expostas a variação de luz ou temperatura, o AA em sua forma livre sofreu rápida degradação, como pode ser observado na Tabela 4.4.

A amostra de AA não encapsulado utilizado como controle degradou mais rapidamente que o AA encapsulado, com retenção de apenas 15% do AA em 15 dias de armazenamento. Devido às altas taxas de degradação, não foi possível fazer a quantificação da amostra de AA não encapsulado a partir do 18º dia, quando o teor de AA disponível foi de apenas 2,5%. Comunian et al. (2013) e Comunian et al. (2014) observaram esse mesmo comportamento de liberação rápida para a amostra de AA não encapsulado.

Tabela 4.4 – Estabilidade das microcápsulas de AA durante 60 dias de armazenamento a 20 °C, expressa em %.

Amostras	1º dia	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias
S5	85 ^{Abc} ± 3	77 ^{Bb} ± 2	66 ^{Cb} ± 2	53 ^{Dc} ± 1	43 ^{Eb} ± 2
S6	83 ^{Ac} ± 2	71 ^{Bc} ± 2	66 ^{Cb} ± 2	49 ^{Dc} ± 3	35 ^{Ec} ± 2
S7	91 ^{Aa} ± 1	89 ^{Aa} ± 1	84 ^{Ba} ± 3	72 ^{Ca} ± 1	60 ^{Da} ± 3
S9	86 ^{Abc} ± 2	79 ^{Bb} ± 2	71 ^{Cb} ± 2	60 ^{Db} ± 1	46 ^{Eb} ± 2
AA puro (controle)	100,00 ± 0,02	15,2 ± 1	-	-	-

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna e letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si estatisticamente pelo Teste de Tukey (p < 0,05).

A concentração de GE:INU foi de 5,0 g/100 mL (S5 e S6) e 7,5 g/100 mL (S7 e S9). A proporção do núcleo foi de 25% (S7), 50% (S5) e 75% (S6 e S9).

As amostras encapsuladas exibiram uma velocidade de degradação menor em comparação com a amostra controle de AA. A amostra S7 destacou-se entre todas as

amostras analisadas por ser a mais estável ao longo dos 60 dias de armazenamento, com retenção de cerca de 60% do AA encapsulado. A amostra S6 apresentou a menor estabilidade, com apenas 35% de AA disponível em 60 dias. Essa baixa estabilidade foi influenciada pela proporção de AA presente nas partículas: quanto maior foi essa proporção, menor a estabilidade, como ocorreu com as amostras S6 (5,0 g/100 mL e 75% núcleo) e S9 (7,5 g/100 mL e 75% núcleo).

Os resultados obtidos demonstraram que o processo de encapsulação utilizando a mistura de inulina e gelatina como materiais de parede aumentou significativamente a estabilidade do AA quando comparado a outros estudos. Na pesquisa realizada por Rodrigues da Cruz et al. (2019) foi obtido 11% de estabilidade em 60 dias de armazenamento, valor de estabilidade inferior ao deste estudo (60%), para as mesmas concentrações de material de parede e período de armazenamento.

Da Cruz, Perussello e Masson (2018) obtiveram valores de estabilidade com uma variação de 2 a 25% para microcápsulas de AA utilizando a pectina e gelatina como materiais de parede em concentrações de 1,0, 2,0 e 3,0 g% e com as mesmas proporções de núcleo deste estudo. Comunian et al. (2013) encapsularam AA por coacervação complexa e obtiveram 60% de retenção do AA em 30 dias de armazenamento, contra 84% obtidos neste estudo. Essa maior estabilidade das microcápsulas de AA pode ser atribuída ao uso de um par polimérico diferente (inulina e gelatina) aos utilizados por Rodrigues da Cruz et al. (2019), Comunian et al. (2013) (goma arábica e gelatina) e Da Cruz, Perussello e Masson (2018) (pectina e gelatina).

3.3 Análise térmica

A análise termogravimétrica é uma técnica utilizada para avaliar a estabilidade térmica de um material ao determinar sua perda de peso em função da temperatura. Este tipo de análise permite avaliar o comportamento dos materiais quando submetidos a tratamentos térmicos, como cozimento, pasteurização e secagem (FERNANDES et al., 2016). A Figura 4.1A apresenta os termogramas (TG) das microcápsulas da amostra S7, gelatina, inulina e AA não encapsulado e suas respectivas derivadas (Figura 4.1B).

O termograma de gelatina exibiu dois eventos de degradação térmica. O primeiro evento ocorreu em um intervalo de temperatura de 31 a 139 °C (Tabela 4.5), representando aproximadamente 9% de perda de massa devido à remoção de água

da amostra. O segundo evento térmico ocorreu de 271 a 391 °C, representando 57% da perda de massa, provavelmente devido à degradação das proteínas presentes na molécula de gelatina.

O AA não encapsulado apresentou dois eventos térmicos, um evento de 194 a 250 °C com perda de massa de 32% e outro evento de 275 a 311 °C, correspondendo a uma perda de massa de 12,4%. O principal evento térmico relacionado à decomposição do AA ocorreu na faixa de temperatura de 191 a 268 °C, com a perda simultânea de uma molécula de H₂O e uma molécula de CO₂ (JINGYAN et al., 2013).

A inulina apresentou dois eventos térmicos. O primeiro evento foi observado a 80,1 a 126 °C, com 3,3% de perda de massa, o que provavelmente está relacionado à perda de água da amostra. O segundo e mais pronunciado evento térmico ocorreu em uma faixa de temperatura de 216 a 332 °C, com 61% de perda de massa, que foi o mesmo comportamento observado por Dan, Ghosh e Moulik (2009) ao avaliar a estabilidade térmica da inulina.

Tabela 4.5 – Parâmetros termogravimétricos da amostra S7, da gelatina, da inulina e AA.

Amostras	Etapas de degradação	Ti (°C)	Tp (°C)	Tf (°C)	Δm %
S7	1 ^a	239,8	268,9	280,5	5
	2 ^a	319	412,5	465	99
Resíduo					0
Gelatina	1 ^a	31	68,3	138,9	9,3
	2 ^a	271,7	335,3	391,4	57,3
Resíduo					0,7
Inulina	1 ^a	80,1	108,5	126	3,3
	2 ^a	216	265,9	332	61
Resíduo					0,1
Ácido ascórbico	1 ^a	194	224,4	250,1	32,3
	2 ^a	275,3	310	311	12,4
Resíduo					0,1

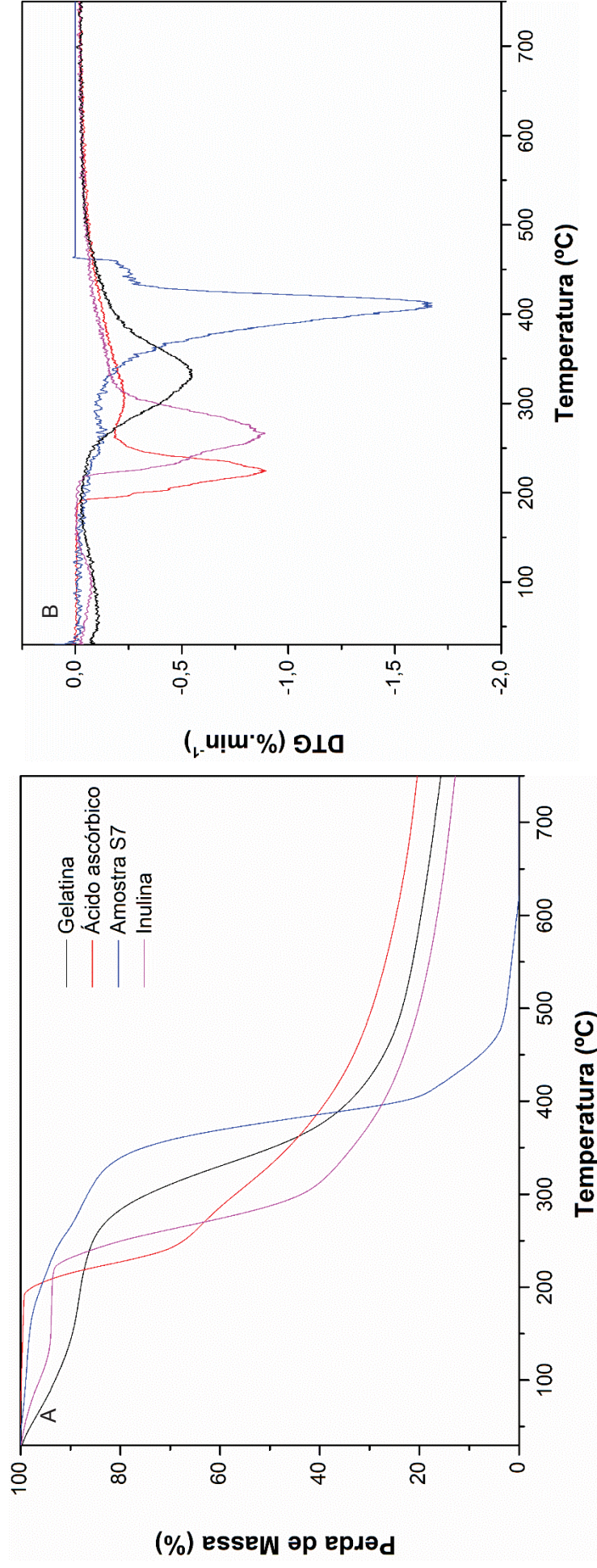
Ti, temperatura inicial; Tp, temperatura de pico; Tf, temperatura final; Δm, perda de massa.

A degradação térmica da amostra S7 ocorreu em duas etapas, sendo a primeira etapa de 239 a 280 °C, com apenas 5% de perda de massa. A segunda etapa de degradação (319 a 465 °C) correspondeu a uma redução significativa de massa, cerca de 99,9%. Essa alta redução de massa pode ter sido causada pela liberação do material do núcleo juntamente com a decomposição do polissacarídeo (inulina) e proteína (gelatina) utilizados como materiais de parede. As temperaturas que proporcionam a maior taxa de perda de massa em cada estágio são normalmente

consideradas como a temperatura de degradação (YOKSAN, JIRAWUTTHIWONGCHAI e ARPO, 2010).

A estabilidade térmica do AA melhorou significativamente com a adição de inulina e gelatina como materiais de parede no processo de microencapsulação. Como apresentado na Figura 4.1, o pico de degradação do AA encapsulado ocorreu em uma temperatura de 412 °C, enquanto que o AA não encapsulado decompôs-se a 224 °C. Este aumento na estabilidade térmica de AA pode ser atribuído à resistência térmica dos materiais, que são capazes de reduzir as taxas de transferência de calor.

Figura 4.1 – Comportamento térmico das microcápsulas da amostra S7, gelatina, inulina e do AA puro e suas respectivas derivadas.



4 CONCLUSÃO

Microcápsulas de inulina e gelatina contendo ácido ascórbico foram obtidas a partir de uma emulsão dupla (A/OA) seguida de liofilização com diferentes concentrações de material de parede. A estabilidade térmica do AA aumentou de 224 °C para 412 °C após a encapsulação. As microcápsulas apresentaram baixa atividade de água (A_w) e baixa higroscopicidade, com solubilidade em água e eficiência de encapsulação variando consideravelmente entre as amostras. A combinação de 7,5 g/100 mL de material de parede com 25% de núcleo resultou na maior EE (91%) e maior estabilidade (60% de AA disponível após 60 dias de armazenamento), com baixa higroscopicidade (3,3g/100g), baixa A_w (0,303) e alta solubilidade em água (44%). A combinação de inulina e gelatina como materiais de parede tem benefícios adicionais atribuídos ao poder prebiótico da inulina, o que torna essas microcápsulas de AA um antioxidante ideal para produtos como carne emulsionada e suco de frutas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo, microcápsulas com núcleo hidrofílico foram produzidas com a adição de uma etapa de emulsificação do agente ativo (AA) em óleo antes do processo de coacervação complexa e da liofilização. A desta etapa de emulsificação antes da coacervação complexa e da liofilização mostrou-se viável para a microencapsulação do AA.

De uma maneira geral, as microcápsulas obtidas com gelatina e goma arábica e com gelatina e pectina como materiais de parede por coacervação complexa apresentaram baixos valores de higroscopicidade e solubilidade em água e uma boa estabilidade durante 60 dias de armazenamento a 20 °C. A eficiência de encapsulação (EE) destes pares poliméricos apresentou grande variação, 27 a 94% (gelatina:goma arábica) e 24 a 94% (gelatina:pectina) demonstrando que tanto a concentração dos materiais de parede quanto a proporção do núcleo influenciaram fortemente os resultados.

As microcápsulas obtidas por emulsão dupla (A/OA) seguida da liofilização utilizando a gelatina:inulina também apresentaram baixos valores de higroscopicidade e A_w . A solubilidade em água apresentou uma grande variação entre as amostras de, 12 a 50%, e o aumento na concentração de inulina resultou em um aumento na solubilidade em água. A EE variou de 20 a 91% e novamente a concentração dos materiais de parede e a proporção do núcleo influenciaram os resultados.

A estabilidade térmica das microcápsulas de AA aumentou significativamente após o processo de microencapsulação para todos os pares poliméricos utilizados em ambos os métodos de microencapsulação, com destaque para as microcápsulas produzidas com gelatina e inulina.

Embora os estudos de liberação tenham sido realizados em meios diferentes (soluções tampão e fluido gástrico e intestinal simulados) o perfil de liberação apresentou comportamento semelhante. As microcápsulas produzidas com gelatina e goma arábica apresentaram uma liberação do AA microencapsulado mais lenta em pH próximo da neutralidade (pH 7,4) e as microcápsulas produzidas com gelatina e pectina em fluidos gástrico e intestinal simulados apresentaram comportamento semelhante, com uma liberação mais lenta em fluido intestinal (pH 6,8).

Como observado neste trabalho, a escolha do material de parede, da proporção do núcleo e do processo de microencapsulação interferem em todas as características

das microcápsulas, e nem sempre a melhor condição encontrada para um par polimérico também será a melhor para o outro. Por exemplo as microcápsulas produzidas com o par polimérico gelatina:goma arábica e com 7,5 g/100 mL de material de parede e 50% de núcleo exibiram uma EE de 94%, já o par polimérico gelatina:pectina apresentou uma EE de 35% utilizando o mesmo processo de microencapsulação (coacervação complexa).

No entanto, o par polimérico gelatina:inulina resultou em uma EE de 75% para as microcápsulas produzidas com 7,5 g/100 mL de material de parede e 50% de núcleo, porém utilizando outro processo de microencapsulação. Outro fator muito importante que deve ser considerado, além dos já citados, é a aplicação final destas microcápsulas, em termos de em qual matriz alimentícia serão adicionadas e quais os tratamentos térmicos a que este alimento será submetido.

Os resultados obtidos neste estudo indicam que a adição da etapa de emulsificação antes do processo de coacervação complexa e de liofilização, juntamente com os materiais de parede utilizados, apresentaram grande potencial para microencapsular o AA, tornando estas microcápsulas viáveis e facilitando a sua incorporação em diferentes matrizes alimentícias.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, S.; DA WEI, C.; HAYAT, K.; XIAOMING, Z. Ascorbic Acid: Microencapsulation Techniques and Trends—A Review. **Food Reviews International**, v. 28, n. 4, p. 343–374, 2012.
- AHMED, J.; RAMASWAMY, H. S.; NGADI, M. O. Rheological characteristics of arabic gum in combination with guar and xanthan gum using response surface methodology: Effect of temperature and concentration. **International Journal of Food Properties**, v. 8, n. 2, p. 179–192, 2005.
- ALVIM, I. D.; GROSSO, C. R. F. Microparticles obtained by complex coacervation: influence of the type of reticulation and the drying process on the release of the core material. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 4, p. 1069–1076, 2010.
- ALVIM, I. D.; STEIN, M. A.; KOURY, I. P.; DANTAS, F. B. H.; CRUZ, C. L. de C. V. Comparison between the spray drying and spray chilling microparticles contain ascorbic acid in a baked product application. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 689–694, 2016.
- ANVARI, M.; CHUNG, D. Dynamic rheological and structural characterization of fish gelatin - Gum arabic coacervate gels cross-linked by tannic acid. **Food Hydrocolloids**, v. 60, p. 516–524, 2016.
- AOAC INTERNATIONAL. **Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th ed. (Official Method 967.21)** Gaithersburg, USA The Association, 2010.
- ARANHA, F. Q.; BARROS, Z. F.; MOURA, L. S. A.; GONÇALVES, M. C. R.; BARROS, J. C.; METRI, J. C.; SOUZA, M. S. O Papel da Vitamina C Sobre as Alterações Orgânicas no Idoso. **Revista Nutr., Campinas - SP**, v. 13, n. 2, p. 89–97, 2000.
- ARSHADY, R. Microcapsules for food. **Journal of microencapsulation**, v. 10, n. 4, p. 413–35, 1993.
- AZEREDO, H. M. C. de. Nanocomposites for food packaging applications. **Food Research International**, v. 42, n. 9, p. 1240–1253, 2009.
- AZEREDO, H. M. C. ENCAPSULAÇÃO: APLICAÇÃO À TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. **Alimentação e Nutrição, Araraquara**, v. 16, n. 1, p. 89–97, 2005.

BACHTSI, A. R.; KIPARISSIDES, C. Synthesis and release studies of oil-containing poly (vinyl alcohol) microcapsules prepared by coacervation. **Journal of Controlled Release**, v. 38, n. 1, p. 49–58, 1996.

BARCLAY, T.; GINIC-MARKOVIC, M.; JOHNSTON, M. R.; COOPER, P. D.; PETROVSKY, N. Analysis of the hydrolysis of inulin using real time ^1H NMR spectroscopy. **Carbohydrate Research**, v. 352, p. 117–125, 2012.

BEIRÃO-DA-COSTA, S.; DUARTE, C.; BOURBON, A. I.; PINHEIRO, A. C.; JANUÁRIO, M. I. N.; VICENTE, A. A.; BEIRÃO-DA-COSTA, M. L.; DELGADILLO, I. Inulin potential for encapsulation and controlled delivery of Oregano essential oil. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 2, p. 199–206, 2013.

BENASSI, M. T.; ANTUNES, A. J. A comparison of metaphosphoric and oxalic acids as extractant solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 31, n. 4, p. 507–513, 1988.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Química do processamento de alimentos**. 2ª edição. São Paulo, Livraria Varela, 2001.

BOSSCHER, D.; VAN LOO, J.; FRANCK, A. Inulin and oligofructose as prebiotics in the prevention of intestinal infections and diseases. **Nutrition Research Reviews**, v. 19, n. 2, p. 216–226, 2006.

BUREY, P.; BHANDARI, B. R.; HOWES, T.; GIDLEY, M. J. Hydrocolloid gel particles: Formation, characterization, and application. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, n. 5, p. 361–377, 2008.

BUTSTRAEN, C.; SALAÜN, F. Preparation of microcapsules by complex coacervation of gum Arabic and chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 99, p. 608–616, 2014.

CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and properties of 2,3-butanediol. **Journal of sensory and nutritive qualities of food**, v. 65, n. 3600, p. 1248–1252, 2000.

CAMPOS, D.; BETALLELUZ-PALLARDEL, I.; CHIRINOS, R.; AGUILAR-GALVEZ, A.; NORATTO, G.; PEDRESCHI, R. Prebiotic effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl), a source of fructooligosaccharides and phenolic compounds with antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 1592–1599, 2012.

CANO-CHAUCA, M.; STRINGHETA, P. C.; RAMOS, A. M.; CAL-VIDAL, J. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 6, n. 4, p. 420–428, 2005.

CASANOVA, F.; ESTEVINHO, B. N.; SANTOS, L. Preliminary studies of rosmarinic acid microencapsulation with chitosan and modified chitosan for topical delivery. **Powder Technology**, v. 297, p. 44–49, 2016.

CHIU, Y. T.; CHIU, C. P.; CHIEN, J. T.; HO, G. H.; YANG, J.; CHEN, B. H. Encapsulation of Lycopene Extract from Tomato Pulp Waste with Gelatin and Poly(γ -glutamic acid) as Carrier. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 13, p. 5123–5130, 2007.

CHOI, S. S., & REGENSTEIN, J. M. Physicochemical and sensory characteristic of fish gelatin. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 2, p. 194–199, 2000.

COESTER, C. J.; LANGER, K.; VAN BRIESEN, H.; KREUTER, J. Gelatin nanoparticles by two step desolvation--a new preparation method, surface modifications and cell uptake. **Journal of microencapsulation**, v. 17, n. 2, p. 187–193, 2000.

COMUNIAN, T. A.; ABBASPOURRAD, A.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; WEITZ, D. A. Fabrication of solid lipid microcapsules containing ascorbic acid using a microfluidic technique. **Food Chemistry**, v. 152, p. 271–275, 2014.

COMUNIAN, T. A.; BOILLON, M. R. G.; THOMAZINI, M.; NOGUEIRA, M. S.; DE CASTRO, I. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Protection of echium oil by microencapsulation with phenolic compounds. **Food Research International**, v. 88, p. 114–121, 2016.

COMUNIAN, T. A.; CHAVES, I. E.; THOMAZINI, M.; MORAES, I. C. F.; FERRO-FURTADO, R.; DE CASTRO, I. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Development of functional yogurt containing free and encapsulated echium oil, phytosterol and sinapic acid. **Food Chemistry**, v. 237, p. 948–956, 2017a.

COMUNIAN, T. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation using biopolymers as an alternative to produce food enhanced with phytosterols and omega-3 fatty acids: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 442–457, 2016.

COMUNIAN, T. A.; RAVANFAR, R.; DE CASTRO, I. A.; DANDO, R.; FAVARO-

TRINDADE, C. S.; ABBASPOURRAD, A. Improving oxidative stability of echium oil emulsions fabricated by Microfluidics: Effect of ionic gelation and phenolic compounds. **Food Chemistry**, v. 233, p. 125–134, 2017b.

COMUNIAN, T. A.; THOMAZINI, M.; ALVES, A. J. G.; DE MATOS JUNIOR, F. E.; DE CARVALHO BALIEIRO, J. C.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation of ascorbic acid by complex coacervation: Protection and controlled release. **Food Research International**, v. 52, n. 1, p. 373–379, 2013.

CONSTANT, P.B.L.; STRINGHETA, P. C. Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Bol. SBCTA**, v. 36, n. 1, p. 12–18, 2002.

DA CRUZ, M. C. R.; PERUSSELLO, C. A.; MASSON, M. L. Microencapsulated ascorbic acid: Development, characterization, and release profile in simulated gastrointestinal fluids. **Journal of Food Process Engineering**, v. 41, n.8, p. 1-10, 2018.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900p.

DAN, A.; GHOSH, S.; MOULIK, S. P. Physicochemical studies on the biopolymer inulin: A critical evaluation of its self-aggregation, aggregate-morphology, interaction with water, and thermal stability. **Biopolymers**, v. 91, n. 9, p. 687–699, 2009.

DAVIDOV-PARDO, G.; AROZARENA, I.; MARÍN-ARROYO, M. R. Optimization of a Wall Material Formulation to Microencapsulate a Grape Seed Extract Using a Mixture Design of Experiments. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 4, p. 941–951, 2013.

DE KRUIF, C. G.; WEINBRECK, F.; DE VRIES, R. Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 9, n. 5, p. 340–349, 2004.

DE MATOS-JR, F. E.; COMUNIAN, T. A.; THOMAZINI, M.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Effect of feed preparation on the properties and stability of ascorbic acid microparticles produced by spray chilling. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 251–260, 2017.

DE OLIVEIRA, A. J. B.; GONÇALVES, R. A. C.; CHIERRITO, T. P. C.; DOS SANTOS, M. M.; DE SOUZA, L. M.; GORIN, P. A. J.; SASSAKI, G. L.; IACOMINI, M. Structure and degree of polymerisation of fructooligosaccharides present in roots and leaves of

Stevia rebaudiana (Bert.) Bertoni. **Food Chemistry**, v. 129, n. 2, p. 305–311, 2011.

DE SOUZA, V. B.; THOMAZINI, M.; ECHALAR BARRIENTOS, M. A.; NALIN, C. M.; FERRO-FURTADO, R.; GENOVESE, M. I.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Functional properties and encapsulation of a proanthocyanidin-rich cinnamon extract (*Cinnamomum zeylanicum*) by complex coacervation using gelatin and different polysaccharides. **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 297–306, 2018.

DEPYPERE, F.; DEWETTINCK, K.; RONSSE, F.; JAN PIETERS T. No Title. **APPLIED BIOTECHNOLOGY, FOOD SCIENCE AND POLICY**, v. 1, n. 2, p. 75–94, 2003.

DESAI, K. G. H.; PARK, H. J. Encapsulation of vitamin C in tripolyphosphate cross-linked chitosan microspheres by spray drying. **Journal of microencapsulation**, v. 22, n. 2, p. 179–92, 2005.

DESAI, K. G.; LIU, C.; PARK, H. J. Characteristics of vitamin C encapsulated tripolyphosphate-chitosan microspheres as affected by chitosan molecular weight. **Journal of microencapsulation**, v. 23, n. 1, p. 79–90, 2006.

DIAS, M. I.; FERREIRA, I. C. F. R.; BARREIRO, M. F. Microencapsulation of bioactives for food applications. **Food & Function**, v. 6, n. 4, p. 1035–1052, 2015.

DICKINSON, E. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. **Food Hydrocolloids**, v. 17, n. 1, p. 25–39, 2003.

DIMA, C.; COTÂRLET, M.; ALEXE, P.; DIMA, S. Reprint of “Microencapsulation of essential oil of pimento [*Pimenta dioica* (L) Merr.] by chitosan/k-carrageenan complex coacervation method”. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 25, p. 97–105, 2014.

DIMA, C.; PĂTRAȘCU, L.; CANTARAGIU, A.; ALEXE, P.; DIMA, Ș. The kinetics of the swelling process and the release mechanisms of *Coriandrum sativum* L. essential oil from chitosan/alginate/inulin microcapsules. **Food Chemistry**, v. 195, p. 39–48, 2016.

DJAGNY, K. B.; WANG, Z.; XU, S. Gelatin: A Valuable Protein for Food and Pharmaceutical Industries: Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 41, n. 6, p. 481–492, 2001.

DONG, W.; BODMEIER, R. Encapsulation of lipophilic drugs within enteric

microparticles by a novel coacervation method. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 326, n. 1–2, p. 128–138, 2006.

DONG, Z.; MA, Y.; HAYAT, K.; JIA, C.; XIA, S.; ZHANG, X. Morphology and release profile of microcapsules encapsulating peppermint oil by complex coacervation. **Journal of Food Engineering**, v. 104, n. 3, p. 455–460, 2011.

DOUBLIER, J.-L.; GARNIER, C.; RENARD, D.; SANCHEZ, C. Protein–polysaccharide interactions. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 5, n. 3–4, p. 202–214, 2000.

DUCEL, V.; RICHARD, J.; SAULNIER, P.; POPINEAU, Y.; BOURY, F. Evidence and characterization of complex coacervates containing plant proteins: application to the microencapsulation of oil droplets. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 232, n. 2–3, p. 239–247, 2004.

EGHBAL, N.; CHOUDHARY, R. Complex coacervation: Encapsulation and controlled release of active agents in food systems. **LWT - Food Science and Technology**, v. 90, p. 254–264, 2018.

FAVARO-TRINDADE, C. S.; PINHO, S. C. De; MIGUEL, A. M. R. D. O.; GARCIA, A. E.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; JARDIM, D. C. P.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; PINHO, S. C. De. Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 11, p. 103–112, 2008.

FELLAH, A.; ANJUKANDI, P.; WATERLAND, M. R.; WILLIAMS, M. A. K. Determining the degree of methylesterification of pectin by ATR/FT-IR: Methodology optimisation and comparison with theoretical calculations. **Carbohydrate Polymers**, v. 78, n. 4, p. 847–853, 2009.

FERNANDES, R. V. D. B.; BORGES, S. V.; BOTREL, D. A. Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, n. 1, p. 524–532, 2014.

FERNANDES, R. V. de B.; BORGES, S. V.; BOTREL, D. A.; OLIVEIRA, C. R. de. Physical and chemical properties of encapsulated rosemary essential oil by spray drying using whey protein-inulin blends as carriers. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 49, n. 6, p. 1522–1529, 2014.

FERNANDES, R. V. de B.; BORGES, S. V.; SILVA, E. K.; DA SILVA, Y. F.; DE SOUZA, H. J. B.; DO CARMO, E. L.; DE OLIVEIRA, C. R.; YOSHIDA, M. I.; BOTREL, D. A.

Study of ultrasound-assisted emulsions on microencapsulation of ginger essential oil by spray drying. **Industrial Crops and Products**, v. 94, p. 413–423, 2016a.

FERNANDES, R. V. de B.; BOTREL, D. A.; SILVA, E. K.; BORGES, S. V.; OLIVEIRA, C. R. de; YOSHIDA, M. I.; FEITOSA, J. P. de A.; DE PAULA, R. C. M. Cashew gum and inulin: New alternative for ginger essential oil microencapsulation. **Carbohydrate Polymers**, v. 153, p. 133–142, 2016b.

FERNANDES, R. V. de B.; GUIMARÃES, I. C.; FERREIRA, C. L. R.; BOTREL, D. A.; BORGES, S. V.; DE SOUZA, A. U. Microencapsulated Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) Essential Oil as a Biopreservative in Minas Frescal Cheese. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 1, p. e12759, 2017a.

FERNANDES, R. V. de B.; SILVA, E. K.; BORGES, S. V.; DE OLIVEIRA, C. R.; YOSHIDA, M. I.; DA SILVA, Y. F.; DO CARMO, E. L.; AZEVEDO, V. M.; BOTREL, D. A. Proposing Novel Encapsulating Matrices for Spray-Dried Ginger Essential Oil from the Whey Protein Isolate-Inulin/Maltodextrin Blends. **Food and Bioprocess Technology**, v. 10, n. 1, p. 115–130, 2017b.

FERNANDEZ, M. L. Pectin – Composition, chemistry, physicochemical properties, food applications, and physiological effects. DREHER, M.L. & CHO, S. S. (Eds), In: Handbook of Dietary Fiber, CRC Press, chap 30, 2001.

FLANAGAN, J.; SINGH, H. Microemulsions: A potential delivery system for bioactives in food. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 46, n. 3, p. 221–237, 2006.

GARCÍA-SALDAÑA, J. S.; CAMPAS-BAYPOLI, O. N.; LÓPEZ-CERVANTES, J.; SÁNCHEZ-MACHADO, D. I.; CANTÚ-SOTO, E. U.; RODRÍGUEZ-RAMÍREZ, R. Microencapsulation of sulforaphane from broccoli seed extracts by gelatin/gum Arabic and gelatin/pectin complexes. **Food Chemistry**, v. 201, p. 94–100, 2016.

GBASSI, G. K.; VANDAMME, T.; ENNAHAR, S.; MARCHIONI, E. Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* spp in an alginate matrix coated with whey proteins. **International Journal of Food Microbiology**, v. 129, n. 1, p. 103–105, 2009.

GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, n. 9, p. 1107–1121, 2007.

GIBBS, B. F.; KERMASHA, S.; ALLI, I.; MULLIGAN, C. N. Encapsulation in the food

industry: a review. **Internacional Journal Food Sciences and Nutrition**, v. 50, p. 213–224, 1999.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **The Journal of nutrition**, v. 125, n. 6, p. 1401–12, 1995.

GLIBOWSKI, P. Effect of thermal and mechanical factors on rheological properties of high performance inulin gels and spreads. **Journal of Food Engineering**, v. 99, n. 1, p. 106–113, 2010.

GÓMEZ-ESTACA, J.; BALAGUER, M. P.; LÓPEZ-CARBALLO, G.; GAVARA, R.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P. Improving antioxidant and antimicrobial properties of curcumin by means of encapsulation in gelatin through electrohydrodynamic atomization. **Food Hydrocolloids**, v. 70, p. 313–320, 2017.

GOMEZ-ESTACA, J.; COMUNIAN, T. A.; MONTERO, P.; FERRO-FURTADO, R.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Encapsulation of an astaxanthin-containing lipid extract from shrimp waste by complex coacervation using a novel gelatin-cashew gum complex. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 155–162, 2016.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; GIMÉNEZ, B.; LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; MONTERO, M. P. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 8, p. 1813–1827, 2011.

GOUIN, S. Microencapsulation: Industrial appraisal of existing technologies and trends. **Trends in Food Science and Technology**, v. 15, n. 7–8, p. 330–347, 2004.

HARTEMINK, R.; VAN LAERE, K. M. J.; ROMBOUTS, F. M. Growth of enterobacteria on fructo-oligosaccharides. **Journal of Applied Microbiology**, v. 83, n. 3, p. 367–374, 1997.

IANNITTI, T.; PALMIERI, B. Therapeutical use of probiotic formulations in clinical practice. **Clinical Nutrition**, v. 29, n. 6, p. 701–725, 2010.

IGLESIAS, M. T.; LOZANO, J. E. Extraction and characterization of sunflower pectin. **Journal of Food Engineering**, v. 62, n. 3, p. 215–223, 2004.

JACKSON, L. S.; LEE, K. Microencapsulation Food Industry. **LWT - Food Science Techonology**, v. 24, n. 4, p. 289–297, 1991.

JAIN, A.; THAKUR, D.; GHOSHAL, G.; KATARE, O. P.; SHIVHARE, U. S. Microencapsulation by Complex Coacervation Using Whey Protein Isolates and Gum Acacia: An Approach to Preserve the Functionality and Controlled Release of β -Carotene. **Food and Bioprocess Technology**, v. 8, n. 8, p. 1635–1644, 2015.

JINGYAN, S.; YUWEN, L.; ZHIYONG, W.; CUNXIN, W. Investigation of thermal decomposition of ascorbic acid by TG-FTIR and thermal kinetics analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 77, p. 116–119, 2013.

JOUZEL B, PENNARUN AL, PROST C, RENARD D, PONCELET D, D. D. Encapsulation of a lipid precursor, the eicosapentaenoic acid, to study the development of the *Crassostrea gigas* oyster flavours. **Journal of Microencapsulation**, v. 20, n. 1, p. 35–46, 2003.

KAROLINI-SKARADZIŃSKA, Z.; BIHUNIAK, P.; PIOTROWSKA, E.; WDOWIK, L. Properties of Dough and Qualitative Characteristics of Wheat Bread. **Pol. J. Food Nutr. Sci.**, v. 57, n. 4, p. 267–270, 2007.

KOLIDA, S.; GIBSON, G. R. Prebiotic Capacity of Inulin-Type Fructans. **The Journal of Nutrition**, v. 137, n. 11, p. 2503S–2506S, 2007.

KUMARI, A.; YADAV, S. K. S. C.; YADAV, S. K. S. C. Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 75, n. 1, p. 1–18, 2010.

LAKKIS, J. M. Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems. In: **Blackwell Publishing**. Cap.1, p. 1-12, 2007.

LAMPRECHT, A; SCHÄFER U, L. C. Influences of process parameters on preparation of microparticle used as a carrier system for omega - 3 unsaturated fatty acid ethyl esters used in supplementary nutrition. **Journal of Microencapsulation**, v. 18, n. 3, p. 347–57, 2001.

LAMPRECHT, A.; SCHÄFER, U. F.; LEHR, C. M. Characterization of microcapsules by confocal laser scanning microscopy: Structure, capsule wall composition and encapsulation rate. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 49, n. 1, p. 1–9, 2000.

LEE, J. B.; AHN, J.; LEE, J.; KWAK, H. S. Ascorbic Acid Microencapsulated with Polyacylglycerol Monostearate for Milk Fortification. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 68, n. 3, p. 495–500, 2004.

LOPES DA SILVA, J. A.; RAO, M. A. **Pectins: structure, functionality, and uses**. In: STEPHEN, A. M.; WILLIAMS, P. A. Editors, Food polysaccharides and their applications (2nd ed), p-54-411, Boca Raton, Florida, 2006.

LUO, Y.; ZHANG, B.; WHEAT, M.; YU, L. L.; WANG, Q. Preparation and characterization of zein/chitosan complex for encapsulation of α -tocopherol, and its in vitro controlled release study. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 85, n. 2, p. 145–152, 2011.

LV, Y.; ZHANG, X.; ZHANG, H.; ABBAS, S.; KARANGWA, E. The study of pH-dependent complexation between gelatin and gum arabic by morphology evolution and conformational transition. **Food Hydrocolloids**, v. 30, n. 1, p. 323–332, 2013.

TRINDADE, M. A.; GROSSO, C. R. F. The stability of ascorbic acid microencapsulated in granules of rice starch and in gum arabic. **Journal of Microencapsulation**, v. 17, n. 2, p. 169–176, 2000.

MADENE, A.; JACQUOT, M.; SCHER, J.; DESOBRY, S. Flavour encapsulation and controlled release - A review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 41, n. 1, p. 1–21, 2006.

MADERUELO, C.; ZARZUELO, A.; LANA, J. M. Critical factors in the release of drugs from sustained release hydrophilic matrices. **Journal of Controlled Release**, v. 154, n. 1, p. 2–19, 2011.

MAHENDRAN, T.; WILLIAMS, P. A.; PHILLIPS, G. O.; AL-ASSAF, S.; BALDWIN, T. C. New insights into the structural characteristics of the arabinogalactan - Protein (AGP) fraction of gum Arabic. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 9269–9276, 2008.

MATALANIS, A.; JONES, O. G.; MCCLEMENTS, D. J. Structured biopolymer-based delivery systems for encapsulation, protection, and release of lipophilic compounds. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 8, p. 1865–1880, 2011.

MATIOLI, G.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Microencapsulação do licopeno com ciclodextrinas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, p. 102–105, 2003.

MATOS-JR, F. E.; DI SABATINO, M.; PASSERINI, N.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; ALBERTINI, B. Development and characterization of solid lipid microparticles loaded

with ascorbic acid and produced by spray congealing. **Food Research International**, v. 67, p. 52–59, 2015.

MENDANHA, D. V.; MOLINA ORTIZ, S. E.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; MAURI, A.; MONTERREY-QUINTERO, E. S.; THOMAZINI, M. Microencapsulation of casein hydrolysate by complex coacervation with SPI/pectin. **Food Research International**, v. 42, n. 8, p. 1099–1104, 2009.

MENSINK, M. A.; FRIJLINK, H. W.; VAN DER VOORT MAARSCHALK, K.; HINRICHS, W. L. J. Inulin, a flexible oligosaccharide I: Review of its physicochemical characteristics. **Carbohydrate Polymers**, v. 130, p. 405–419, 2015.

MONFREGOLA, L.; BUGATTI, V.; AMODEO, P.; DE LUCA, S.; VITTORIA, V. Physical and water sorption properties of chemically modified pectin with an environmentally friendly process. **Biomacromolecules**, v. 12, n. 6, p. 2311–2318, 2011.

MORRIS, C.; MORRIS, G. A. The effect of inulin and fructo-oligosaccharide supplementation on the textural, rheological and sensory properties of bread and their role in weight management: A review. **Food Chemistry**, v. 133, n. 2, p. 237–248, 2012.

MOSCHAKIS, T.; BILIADERIS, C. G. Biopolymer-based coacervates: Structures, functionality and applications in food products. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 28, p. 96–109, 2017.

NAKAGAWA, K.; IWAMOTO, S.; NAKAJIMA, M.; SHONO, A.; SATOH, K. Microchannel emulsification using gelatin and surfactant-free coacervate microencapsulation. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 278, n. 1, p. 198–205, 2004.

NORI, M. P. Ingredientes e aditivos microencapsulados na indústria de alimentos. **Revista Engenharia de Alimentos**, v. 1, p. 33–34, 1996.

NORI, M. P.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; MATIAS DE ALENCAR, S.; THOMAZINI, M.; DE CAMARGO BALIEIRO, J. C.; CONTRERAS CASTILLO, C. J. Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, n. 2, p. 429–435, 2011.

PAGÁN, J.; IBARZ, A.; LLORCA, M.; PAGÁN, A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Extraction and characterization of pectin from stored peach pomace. **Food Research International**, v. 34, n. 7, p. 605–612, 2001.

PALMA-RODRIGUEZ, H. M.; AGAMA-ACEVEDO, E.; GONZALEZ-SOTO, R. A.; VERNON-CARTER, E. J.; ALVAREZ-RAMIREZ, J.; BELLO-PEREZ, L. A. Ascorbic acid microencapsulation by spray-drying in native and acid-modified starches from different botanical sources. **Starch/Staerke**, v. 65, n. 7–8, p. 584–592, 2013.

PANYOYAI, N.; BANNIKOVA, A.; SMALL, D. M.; KASAPIS, S. Diffusion kinetics of ascorbic acid in a glassy matrix of high-methoxy pectin with polydextrose. **Food Hydrocolloids**, v. 53, p. 293–302, 2014.

PASSOS, L. M. L.; PARK, Y. K. Frutooligossacarídeos : implicações na saúde humana e utilização em alimentos. **Ciencia Rural**, v. 33, n. 2, p. 385–390, 2003.

PAULO, F.; SANTOS, L. Design of experiments for microencapsulation applications: A review. **Materials Science and Engineering C**, v. 77, p. 1327–1340, 2017..

PEREIRA, H. V. R.; SARAIVA, K. P.; CARVALHO, L. M. J.; ANDRADE, L. R.; PEDROSA, C.; PIERUCCI, A. P. T. R. Legumes seeds protein isolates in the production of ascorbic acid microparticles. **Food Research International**, v. 42, n. 1, p. 115–121, 2009.

PIERUCCI, A. P. T. R.; ANDRADE, L. R.; BAPTISTA, E. B.; VOLPATO, N. M.; ROCHA-LEÃO, M. H. M. New microencapsulation system for ascorbic acid using pea protein concentrate as coat protector. **Journal of microencapsulation**, v. 23, n. 6, p. 654–662, 2006.

POPPE, J. **Thickening and gelling agents for food**. New York: Blackie Academic & Professional, 1997.

POTHAKAMURY, U. R.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Fundamental aspects of controlled release in foods. **Trends in Food Science and Technology**, v. 6, n. 12, p. 397–406, 1995.

PRATA, A. S.; GROSSO, C. R. F. Production of microparticles with gelatin and chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 116, p. 292–299, 2015.

PRATA, A. S.; MENUT, C.; LEYDET, A.; TRIGO, J. R.; GROSSO, C. R. F. Encapsulation and release of a fluorescent probe , khusimyl dansylate , obtained from vetiver oil by complex coacervation. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 23, p. 7–15, 2008.

RAJABI, H.; GHORBANI, M.; JAFARI, S. M.; SADEGHI MAHOONAK, A.; RAJABZADEH, G. Retention of saffron bioactive components by spray drying encapsulation using maltodextrin, gum Arabic and gelatin as wall materials. **Food Hydrocolloids**, v. 51, p. 327–337, 2015.

RALET, M. C.; DRONNET, V.; BUCHHOLT, H. C.; THIBAUT, J. F. Enzymatically and chemically de-esterified lime pectins: Characterisation, polyelectrolyte behaviour and calcium binding properties. **Carbohydrate Research**, v. 336, n. 2, p. 117–125, 2001.

RÉ, M. I. MICROENCAPSULATION BY SPRAY DRYING. **Drying Technology**, v. 16, n. 6, p. 1195–1236, 1998.

RÉ, M. I. Cápsulas inteligentes. **Ciência Hoje**, v. 27, n. 162, p. 24–29, 2000.

REINECCIUS, G. A. Controlled Release Techniques in the Food Industry. In: **Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients**. Cap. 2 p. 8–25, 1995.

RIBEIRO, M. D. M.; ARELLANO, D. B.; GROSSO, C. R. F. The effect of adding oleic acid in the production of stearic acid lipid microparticles with a hydrophilic core by a spray-cooling process. **Food Research International**, v. 47, n. 1, p. 38–44, 2012.

RIDLEY, B. L.; O'NEILL, M. A.; MOHNEN, D. Pectins: Structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling. **Phytochemistry**, v. 57, n. 6, p. 929–967, 2001.

ROBERFROID, M. B. Inulin-Type Fructans : Functional. **The Journal of nutrition**, n. 5, p. 2493–2502, 2007.

ROBERFROID, M.; GIBSON, N.; DELZENNE, D. The Biochemistry of Oligofructose, a Nondigestible Fiber: An Approach to Calculate Its Caloric Value. **Nutrition Reviews**, v. 51, n. 5, p. 1753–4887, 1993.

ROBERT, P.; GARCÍA, P.; REYES, N.; CHÁVEZ, J.; SANTOS, J. Acetylated starch and inulin as encapsulating agents of gallic acid and their release behaviour in a hydrophilic system. **Food Chemistry**, v. 134, n. 1, p. 1–8, 2012.

ROCHA-SELMÍ, G. A.; BOZZA, F. T.; THOMAZINI, M.; BOLINI, H. M. A.; FÁVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation of aspartame by double emulsion followed by complex coacervation to provide protection and prolong sweetness. **Food Chemistry**, v. 139, n. 1–4, p. 72–78, 2013a.

ROCHA-SELMÍ, G. A.; THEODORO, A. C.; THOMAZINI, M.; BOLINI, H. M. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Double emulsion stage prior to complex coacervation process for microencapsulation of sweetener sucralose. **Journal of Food Engineering**, v. 119, n. 1, p. 28–32, 2013b.

RODEA-GONZÁLEZ, D. A.; CRUZ-OLIVARES, J.; ROMÁN-GUERRERO, A.; RODRÍGUEZ-HUEZO, M. E.; VERNON-CARTER, E. J.; PÉREZ-ALONSO, C. Spray-dried encapsulation of chia essential oil (*Salvia hispanica* L.) in whey protein concentrate-polysaccharide matrices. **Journal of Food Engineering**, v. 111, n. 1, p. 102–109, 2012.

RODRIGUES DA CRUZ, M. C.; ANDREOTTI DAGOSTIN, J. L.; PERUSSELLO, C. A.; MASSON, M. L. Assessment of physicochemical characteristics, thermal stability and release profile of ascorbic acid microcapsules obtained by complex coacervation. **Food Hydrocolloids**, v. 87, p. 71–82, 2019.

RODRIGUES, O. R. L.; ASQUIERI, E. R.; ORSI, D. C. Prevention of enzymatic browning of yacon flour by the combined use of anti-browning agents and the study of its chemical composition. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 34, n. 2, p. 275–280, 2014.

ROZMAN, B.; GAŠPERLIN, M. Stability of vitamins C and E in topical microemulsions for combined antioxidant therapy. **Drug Delivery**, v. 14, n. 4, p. 235–245, 2007.

RUTZ, J. K.; BORGES, C. D.; ZAMBIAZI, R. C.; CRIZEL-CARDOZO, M. M.; KUCK, L. S.; NOREÑA, C. P. Z. Microencapsulation of palm oil by complex coacervation for application in food systems. **Food Chemistry**, v. 220, p. 59–66, 2017a.

RUTZ, J. K.; BORGES, C. D.; ZAMBIAZI, R. C.; CRIZEL-CARDOZO, M. M.; KUCK, L. S.; NOREÑA, C. P. Z. Microencapsulation of palm oil by complex coacervation for application in food systems. **Food Chemistry**, v. 220, p. 59–66, 2017b.

RUTZ, J. K.; BORGES, C. D.; ZAMBIAZI, R. C.; DA ROSA, C. G.; DA SILVA, M. M. Elaboration of microparticles of carotenoids from natural and synthetic sources for applications in food. **Food Chemistry**, v. 202, p. 324–333, jul. 2016.

RUTZ, J. K.; ZAMBIAZI, R. C.; BORGES, C. D.; KRUMREICH, F. D.; DA LUZ, S. R.; HARTWIG, N.; DA ROSA, C. G. Microencapsulation of purple Brazilian cherry juice in xanthan, tara gums and xanthan-tara hydrogel matrixes. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 2, p. 1256–1265, 2013.

SANTINHO, A. J. P.; PEREIRA, N. L.; DE FREITAS, O.; COLLETT, J. H. Influence of formulation on the physicochemical properties of casein microparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 186, n. 2, p. 191–198, 1999.

SANTOS, P.H.S. (2008) Estudo da Cinética de degradação do Ácido Ascórbico na secagem se Abacaxi em Atmosfera Modificada. Tese (Mestrado em Engenharia Química) Campinas – SP, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, 144p.

SANTOS, A. B., FERREIRA, V. P., GROSSO, C. R. F. Microcápsulas: Uma alternativa viável - Microencapsulação de produtos sensíveis à oxidação óleo-resina de páprica. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v. 16, n. 3, p. 26–30, 2000.

SANTOS, M. G.; BOZZA, F. T.; THOMAZINI, M.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation of xylitol by double emulsion followed by complex coacervation. **Food Chemistry**, v. 171, p. 32–39, 2015.

SANTOS, M. G.; CARPINTEIRO, D. A.; THOMAZINI, M.; ROCHA-SELMÍ, G. A.; DA CRUZ, A. G.; RODRIGUES, C. E. C.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Coencapsulation of xylitol and menthol by double emulsion followed by complex coacervation and microcapsule application in chewing gum. **Food Research International**, v. 66, p. 454–462, 2014.

SARAVANAN, M.; RAO, K. P. Pectin-gelatin and alginate-gelatin complex coacervation for controlled drug delivery: Influence of anionic polysaccharides and drugs being encapsulated on physicochemical properties of microcapsules. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, n. 3, p. 808–816, 2010.

SARTORI, T.; CONSOLI, L.; HUBINGER, M. D.; MENEGALLI, F. C. Ascorbic acid microencapsulation by spray chilling: Production and characterization. **LWT - Food Science and Technology**, v. 63, n. 1, p. 353–360, 2015.

SCHMITT, C.; SANCHEZ, C.; DESPOND, S.; RENARD, D.; THOMAS, F.; HARDY, J. Effect of protein aggregates on the complex coacervation between α -lactoglobulin and acacia gum at pH 4.2. **Food Hydrocolloids**, v. 14, p. 403–413, 2000.

SCHMITT, C.; SANCHEZ, C.; DESOBRY-BANON, S.; HARDY, J. Structure and Technofunctional Properties of Protein- Polysaccharide Complexes: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 38, n. 8, p. 689–753, 1998.

SCHMITT, C.; SANCHEZ, C.; THOMAS, F.; HARDY, J. Complex coacervation between β -lactoglobulin and acacia gum in aqueous medium. **Food Hydrocolloids**, v. 13, n. 6, p. 483–496, 1999.

SHADDEL, R.; HESARI, J.; AZADMARD-DAMIRCHI, S.; HAMISHEHKAR, H.; FATHI-ACHACHLOUEI, B.; HUANG, Q. Use of gelatin and gum Arabic for encapsulation of black raspberry anthocyanins by complex coacervation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, p. 1800–1810, fev. 2018.

SHAHIDI, F.; HAN, X. Encapsulation of food ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 6, p. 501–547, 1993.

SHIGA, H.; YOSHII, H.; NISHIYAMA, T.; FURUTA, T.; FORSSELE, P.; POUTANEN, K.; LINKO, P. Flavor Encapsulation and Release Characteristics of Spray-Dried Powder By the Blended Encapsulant of Cyclodextrin and Gum Arabic. **Drying Technology**, v. 19, n. 7, p. 1385–1395, 2001.

SILVA, D. F.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; ROCHA, G. A.; THOMAZINI, M. Microencapsulation of lycopene by gelatin-pectin complex coacervation. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 36, n. 2, p. 185–190, 2012.

SILVA, R. F. Use of Inulin as a Natural Texture Modifier. **CEREAL FOODS WORLD**, v. 41, n. 10, p. 792–794, 1996.

SING, C. E. Development of the modern theory of polymeric complex coacervation. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 239, p. 2–16, 2017.

SOMCHUE, W.; SERMSRI, W.; SHIOWATANA, J.; SIRIPINYANOND, A. Encapsulation of α -tocopherol in protein-based delivery particles. **Food Research International**, v. 42, n. 8, p. 909–914, 2009.

SPERBER, B. L. H. M.; SCHOLS, H. A.; COHEN STUART, M. A.; NORDE, W.; VORAGEN, A. G. J. Influence of the overall charge and local charge density of pectin on the complex formation between pectin and β -lactoglobulin. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 3, p. 765–772, 2009.

STEVENS, C. V.; MERIGGI, A.; BOOTEN, K. Chemical Modification of Inulin, a Valuable Renewable Resource, and Its Industrial Applications. **Biomacromolecules**, v. 2, n. 1, p. 1–16, 2001.

SUAVE, J.; DALL'AGNOL, E. C.; PEZZIN, A. P. T.; SILVA, D. A. K.; MEIER, M. M.; SOLDI, V. Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. **Revista Saúde e Ambiente / Health and Environment Journal**, v. 7, p. 12–20, 2006.

THAKUR, B. R.; SINGH, R. K.; HANDA, A. K. Chemistry and Uses of Pectin - A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 37, n. 1, p. 47–73, 1997.

THIES, C. **Complex coacervation. How to make microcapsules – Lecture and Laboratory Manual**. 1995.

THIES, C. Microencapsulation of flavors by complex coacervation. In: LAKKIS JM (ed.). **Encapsulation and controlled release technologies in food systems**. Blackwell Publishing, Ames, p. 149–170, 2007.

TORINI, L.; ARGILLIER, J. F.; ZYDOWICZ, N. Interfacial Polycondensation Encapsulation in Miniemulsion. **Macromolecules**, v. 38, n. 8, p. 3225–3236, 2005.

TURGEON, S. L.; BEAULIEU, M.; SCHMITT, C.; SANCHEZ, C. Protein-polysaccharide interactions: Phase-ordering kinetics, thermodynamic and structural aspects. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 8, n. 4–5, p. 401–414, 2003.

UDDIN, M. S.; HAWLADER, M. N.; ZHU, H. J. Microencapsulation of ascorbic acid: effect of process variables on product characteristics. **Journal of microencapsulation**, v. 18, n. 2, p. 199–209, 2001.

VORAGEN, A. G. J.; SCHOL, H.; VISSER, R. **Advances in pectin and pectinase research**. 1. ed. [s.l.] Springer Netherlands, 2003.

WANG, Y.; KIMURA, K.; DUBIN, P. L.; JAEGER, W. Polyelectrolyte–Micelle Coacervation: Effects of Micelle Surface Charge Density, Polymer Molecular Weight, and Polymer/Surfactant Ratio. **Macromolecules**, v. 33, n. 9, p. 3324–3331, maio 2000.

WANG, Z.; JU, X.; HE, R.; YUAN, J.; ALUKO, R. E. Effect of high pressure treatment on rapeseed protein microparticle properties and gastrointestinal release behavior of the encapsulated peptides. **Food Research International**, v. 77, p. 549–555, nov. 2015.

WICHIENTHOT, S.; THAMMARUTWASIK, P.; JONGJAREONRAK, A.;

CHANSUWAN, W.; HMADHLU, P.; HONGPATTARAKERE, T.; ITHARAT, A.; OORAIKUL. Extraction and analysis of prebiotics from selected plants from southern Thailand. **Songklanakarin Journal of Science Technology**, v. 33, n. 5, p. 517–523, 2011.

WILLATS, W. G. T.; KNOX, J. P.; MIKKELSEN, J. D. Pectin: New insights into an old polymer are starting to gel. **Trends in Food Science and Technology**, v. 17, n. 3, p. 97–104, 2006.

WILLIAMS, P. A.; PHILLIPS, G. O. Gum Arabic - Production, Safety and Physiological Effects, Physicochemical Characterization, Functional Properties, and Food Applications. In: CHO, S. S; DREHER, M. L. (Eds). **Handbook of Dietary Fiber**, cap. 34, CRC Press, 2 Ed. 2001.

XIAO, Z.; LIU, W.; ZHU, G.; ZHOU, R.; NIU, Y. A review of the preparation and application of flavour and essential oils microcapsules based on complex coacervation technology. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 8, p. 1482–1494, 2014.

XING, F.; CHENG, G.; YI, K.; MA, L. Nanoencapsulation of capsaicin by complex coacervation of gelatin, acacia, and tannins. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 96, n. 6, p. 2225–2229, 2005.

YANG, Z.; PENG, Z.; LI, J.; LI, S.; KONG, L.; LI, P.; WANG, Q. Development and evaluation of novel flavour microcapsules containing vanilla oil using complex coacervation approach. **Food Chemistry**, v. 145, p. 272–277, 2014.

YOKSAN, R.; JIRAWUTTHIWONGCHAI, J.; ARPO, K. Encapsulation of ascorbyl palmitate in chitosan nanoparticles by oil-in-water emulsion and ionic gelation processes. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 76, n. 1, p. 292–297, 2010.

YUN, J. W. Fructooligosaccharides - Occurrence, preparation, and application. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 19, n. 2, p. 107–117, 1996.

ZAHN, S.; PEPKE, F.; ROHM, H. Effect of inulin as a fat replacer on texture and sensory properties of muffins. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 45, n. 12, p. 2531–2537, 2010.

ZUANON, L. A. C.; MALACRIDA, C. R.; TELIS, V. R. N. Production of turmeric oleoresin microcapsules by complex coacervation with gelatin-gum arabic. **Journal of Food Process Engineering**, v. 36, n. 3, p. 364–373, 2013.

APÊNDICE 1

Preparo das soluções tampão

1. Soluções utilizadas no preparo dos tampões

1.1 Solução de ftalato ácido de potássio ($\text{C}_8\text{H}_5\text{O}_4\text{K}$) 0,1M

Aproximadamente 4 g de ftalato de potássio foram secos em estufa a 110°C por 30 minutos, em seguida foram transferidos para um dessecador até o resfriamento completo. Em um becker foram pesados 2,042 g do ftalato seco, solubilizados em água destilada e transferidos quantitativamente para balão volumétrico de 100 mL.

1.2 Solução fosfato de potássio (KH_2PO_4) 0,1M

Aproximadamente 5 g de KH_2PO_4 foram secos em estufa a 110°C por 30 minutos, em seguida foram transferidos para um dessecador até o resfriamento completo. Em um becker foram pesados 3,4025 g do sal seco, solubilizados em água destilada e transferidos quantitativamente para balão volumétrico de 250 mL.

1.3 Solução de acetato de sódio 0,2 M

Em um becker pesar 1,64 g de $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2\text{Na}$ ou 2,72 g $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2\text{Na} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, solubilizar em água destilada e transferir quantitativamente para balão volumétrico de 100 mL.

1.4 Solução de ácido acético 0,2 M

Foram pipetados 1,15 mL de ácido acético concentrado, transferidos para um balão volumétrico de 100 mL contendo aproximadamente 50 mL de água destilada.

1.5 Solução Hidróxido de sódio (NaOH) 0,1M

Em um becker foram pesados 10 g de hidróxido de sódio, solubilizados em água destilada e transferidos quantitativamente para balão volumétrico de 250 mL;

1.6 Solução de HCl 0,1M ($\text{pH} = 1,1$)

Foram pipetados 0,83 mL de HCl concentrado, transferidos para em balão volumétrico de 100 mL contendo aproximadamente 50 mL de água destilada;

2 Preparo das soluções tampão

2.1 Solução tampão de pH = 2,2

Em balão volumétrico de 100 mL foram adicionados 50 mL da solução de ftalato ácido de potássio 0,1M e 46,70 mL da solução de HCl 0,1M, o volume foi completado com água destilada, a solução foi homogeneizada e o pH foi conferido.

2.2 Solução tampão acetato pH = 5,4:

Em balão volumétrico de 100 mL adicionar 41,2 mL da solução de acetato de sódio e 8,8 mL da solução de ácido acético e completar o volume do balão com água destilada, agitar e conferir o pH.

2.3 Solução tampão fosfato pH = 7,4

Em balão volumétrico de 100 mL adicionar 50 mL de solução de fosfato de potássio 0,1M e 39,50 mL de solução de NaOH 0,1M, completar o volume com água destilada, agitar e conferir o pH.

2.4 Solução tampão borato pH = 9,6

Transferir 3,093 g de ácido bórico e 3,728 g de cloreto de potássio para balão volumétrico de 1000 mL, adicionar 250 mL de água destilada e agitar até dissolução. Acrescentar 182 mL de hidróxido de sódio 0,2 M e completar o volume com água destilada. Ajustar o pH se necessário.

2.5 Solução pH = 12

Em balão volumétrico de 100 mL adicionar 20 mL de solução de NaOH 0,1M, completar o volume com água destilada, agitar e conferir o pH.

ANEXO I

Artigo publicado na Revista Food Hydrocolloids

(Qualis A1 – Ciência de Alimentos)

Food Hydrocolloids 87 (2019) 71–82



Contents lists available at ScienceDirect

Food Hydrocolloids

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodhyd



Assessment of physicochemical characteristics, thermal stability and release profile of ascorbic acid microcapsules obtained by complex coacervation



Michele Cristina Rodrigues da Cruz^{a,*}, João Luiz Andreotti Dagoesti^a,
Camila Augusto Perussello^b, Maria Lúcia Masson^a

^a Department of Chemical Engineering, Graduate Program in Food Engineering, Federal University of Paraná, Av. Francisco de Sales, 400, CEP 81530-900, Curitiba, PR, Brazil

^b Dublin Institute of Technology, Environmental Sustainability and Health Institute, Grangegorman, D07 R0W0, Dublin, Ireland

ARTICLE INFO

Keywords:
Microencapsulation
Vitamin C
Coacervation
Emulsion
Freeze-drying

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the physicochemical characteristics, thermal stability and release profile of ascorbic acid (AA) microcapsules obtained by complex coacervation. Gelatin and gum arabic were used as wall materials in concentrations of 2.5, 5.0 and 7.5% (w/v). The microcapsules were freeze-dried and assessed for physicochemical characteristics, thermal behavior and stability during 60 days of storage. The release profile was evaluated at different pH values (1.1, 2.3, 5.4, 7.4, 9.6 and 12). The encapsulation efficiency ranged from 27.3 to 93.8%. The microcapsules of AA presented good characteristics for application in food matrices, such as: average diameter below 12.4 μm, low solubility and low hygroscopicity. The AA had its thermal stability significantly improved by the encapsulation process, which extends its application in the food industry. The release of AA was slower at pH near neutrality, with release of 67, 96 and 99% of encapsulated AA at 240, 300 and 270 min at pH 5.4, 7.4 and 9.6, respectively. Different mathematical models were successfully fitted to the release kinetics: $R^2 > 0.94$, absolute deviations < 16% and RMS deviations < 0.09. A mathematical model for a two-step release was proposed, resulting in very high correlation with the experimental data observed: $R^2 > 0.99$, absolute deviations < 3.5% and RMS deviation around 0.02.

1. Introduction

Ascorbic acid (AA) has been used as an ingredient or additive in foods due to its antioxidant and reducing properties, as well as its nutritional function as a source of vitamin C. In the food industry, AA is widely applied in most curing and inhibition of enzymatic browning of fruits and vegetables. The degradation of AA is influenced by factors such as the presence of heat, light, high pH values, high oxygen concentration, high water activity and reactions catalyzed by transition metal ions, such as Cu^{2+} and Fe^{3+} (Poncosma, Durodaran, & Puckin, 2010). In aqueous solutions and in foods, their stability is directly related to the storage conditions and composition of the solution or matrix. A variety of methods has been proposed in order to increase the AA's shelf-life, including encapsulation. Encapsulation is defined as a process in which small particles or droplets (the active material) are surrounded by a coating with the main purpose of protecting them from adverse conditions of the medium, such as light, moisture, oxygen and interaction with other compounds, in addition to providing controlled release of the active compound (Abbas, Wei, Hayes, & Xiaoming, 2012;

Roroldson, Shabidi & Xiao-Qing Han, 1999; Ghanafar, Roudsari, Chahin, Volley, & Saeedi, 2009; Gibbs, Kemasaka, Ali, & Mulligan, 1999).

Several methods of microencapsulation may be employed to improve the stability of AA, such as spray drying (Alvim, Stein, Koury, Dantas, & Cruz, 2016; Douai & Puck, 2005; Trindade & Grossi, 2009), spray coagulation (Matoz-Jr, Di Sabatino, Pasarelli, Farias-Trindade, & Albertini, 2015), microfluidic technique (Comunian, Abbaquorad, Farias-Trindade, & Weitz, 2014), solvent evaporation (Uddin, Hawlader, & Zhu, 2001), spray chilling (Sertest, Cosmoli, Hahinger, & Mesogilli, 2015) and the complex coacervation (Comunian et al., 2013). Coacervation is the separation of one or more hydrocolloids from an initial solution followed by deposition of the coacervate phase around an active ingredient suspended or emulsified in the reaction medium (Doublier, Gamier, Renaud, & Sanchez, 2000; Neri et al., 2011). Complex coacervation is an alternative encapsulation method for sensitive and unstable compounds, which produces a true capsule, completely protecting the active material within the wall material. The capsules produced by complex coacervation are insoluble in water,

* Corresponding author.
E-mail address: michelecrd@ufpr.br (M.C. Rodrigues da Cruz).

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.07.043>

Received 13 November 2017; Received in revised form 6 April 2018; Accepted 24 July 2018
Available online 25 July 2018

0268-005X/ © 2018 Elsevier Ltd. All rights reserved.

ANEXO II

Artigo publicado na revista Journal of Food Process Engineering
(Qualis B1 – Ciência de Alimentos)

Received: 16 June 2018 | Revised: 25 September 2018 | Accepted: 1 October 2018
DOI: 10.1111/jfpe.12922



WILEY *Journal of Food Process Engineering*

ORIGINAL ARTICLE

Microencapsulated ascorbic acid: Development, characterization, and release profile in simulated gastrointestinal fluids

Michele Cristina Rodrigues da Cruz¹ | Camila Augusto Perussello² | Maria Lúcia Masson¹

¹Department of Chemical Engineering,
Graduate Program in Food Engineering,
Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil
²Environmental Sustainability and Health
Institute, Dublin Institute of Technology,
Dublin, Ireland

Correspondence
Michele Cristina Rodrigues da Cruz,
Department of Chemical Engineering,
Graduate Program in Food Engineering,
Federal University of Paraná, Av. Francisco
Hoffmann dos Santos s/n, Curitiba CEP
81530-900, PR, Brazil.
Email: michelecrz@ufpr.br

Funding Information
Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal
de Nível Superior; Coordination for the
Improvement of Higher Education Personnel

Abstract

The aim of this study was to produce ascorbic acid (AA) microcapsules by complex coacervation, characterize them, and evaluate the release profile in simulated gastrointestinal fluids. The microcapsules were made of gelatin and pectin at concentrations of 1.0, 2.0, and 3.0%. The coacervated microcapsules were assessed for morphology (by optical microscopy and scanning electron microscopy), water activity (A_w), hygroscopicity, solubility, encapsulation efficiency (EE), thermal behavior, and AA release profile. The AA microcapsules were characterized by low solubility, low hygroscopicity, high thermal stability, and low diameter ($<1.0\ \mu\text{m}$), with EE ranging from 29.7 to 94.3%. The release profile was faster in gastric fluid (pH 1.8) than in intestinal fluid (pH 6.8). The sample containing 2.0% of wall material and 50% (w/w) of the simple emulsion (cont) had the highest EE and the best in vitro release profile, with release of only 68% of AA in 120 min in the gastric fluid.

Practical applications

Ascorbic acid (AA) is widely used in the food industry as an antioxidant, but practical use becomes limited due to its high instability. Microencapsulation was proposed as an alternative to increase the stability of this compound. Gelatin and pectin were used as wall materials in the production of ascorbic acid microcapsules by complex coacervation. Both solubility and hygroscopicity were low while the thermal stability of the active material improved with the microencapsulation process. Ascorbic acid release was more pronounced in gastric fluid (pH 1.8) and slower in intestinal fluid (pH 6.8). The results of this study demonstrate that the microcapsules produced represent a feasible method of increasing AA availability in food products, especially for those samples that presented high encapsulation efficiency.

1 | INTRODUCTION

Ascorbic acid (AA) is a bioactive compound known for its health benefits as it is a source of vitamin C. In addition to the nutritional function, AA is used as antioxidant in meat products and to reduce enzymatic browning in vegetables and fresh fruits (Abbas, Da Wei, Hayat, & Xiaoming, 2012; Demodarian, Parkin, & Remme, 2010). However, this additive is highly unstable and reactive, undergoing rapid degradation when exposed to temperature and pH variations, light, high concentrations of oxygen, and high water activity (Demodarian et al., 2010). Due to its high instability, the incorporation of AA into food

matrices is not straightforward. The food industry has been using microencapsulation to increase the stability of heat labile compounds, as well as to control their release into the desired medium (Abbas et al., 2012; Dias, Ferreira, & Balseiro, 2015).

Microencapsulation is defined as a process in which the active material is surrounded by a coating or wall, forming small capsules that protect the encapsulated material from adverse external conditions (i.e., light, heat, moisture, oxygen, interaction with other compounds) and hence increase its stability, while maintaining the viability of the active compound throughout processing and storage (Abbas et al., 2012; Desai, Liu, & Park, 2006; Dias et al., 2015; Ghannafieoui,